



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BRENA MONALINE DE MENEZES REZENDE

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES COM
ÓLEO ESSENCIAL *Syzygium aromaticum* DISPERSAS EM HIDROGÉIS
COM AÇÃO LARVICIDA CONTRA O *Aedes aegypti*”.**

**“DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HYDROGELS BASED ON
MICROEMULSION ESSENTIAL OIL SYZYGIUM AROMATICUM WITH
LARVICIDE ACTION AGAINST AEGES AEGYPTI LARVES”**





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BRENA MONALINE DE MENEZES REZENDE

**“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES COM
ÓLEO ESSENCIAL *Syzygium aromaticum* DISPERSAS EM HIDROGÉIS
COM AÇÃO LARVICIDA CONTRA O *Aedes aegypti*”.**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Química, da Universidade Federal de
Sergipe, para a obtenção do título de
Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento

Coorientador: Prof. Dr. Rogéria de Souza Nunes

**“DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HYDROGES BASED ON
MICROEMULSION ESSENTIAL OIL SYZYGIUM AROMATICUM WITH
LARVICIDE ACTION AGAINST AEGES AEGYPTI LARVES”**

*Master dissertation presented to the
Graduate Programm in Chemistry of
the Federal University of Sergipe to
obtain MSc. in Chemistry.*



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

R467d Rezende, Brena Monaline de Menezes
"Desenvolvimento e caracterização de microemulsões com óleo
essencial *Syzygium aromaticum* dispersas em hidrogéis com ação
larvívica contra o *Aedes aegypti*" / Brena Monaline de Menezes
Rezende ; orientador Victor Hugo Vitorino Sarmiento. - São
Cristóvão, 2018.
82 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de
Sergipe, 2018.

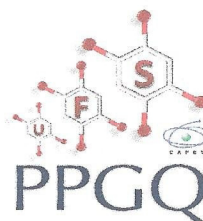
1. *Aedes aegypti*. 2. Polímeros. 3. Polimerização em emulsão.
I. Sarmiento, Victor Hugo Vitorino. II. Título.

CDU 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SERGIPE

Programa de Pós-graduação em
Química - PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação
de Mestrado de Brena Monalme de Menezes
Rezende apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade Federal de
Sergipe em 21/08/2017.

Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmento
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Prof.ª Dr.ª Renata Cristina Kiatkoski Kaminski
Departamento de Química do Campus de Itabaiana – UFS

Prof.ª Dr.ª Leila Aparecida Chiavacci
Universidade Estadual Paulista

RESUMO

Devido aos aspectos negativos associados ao uso indiscriminado de inseticidas químicos, os óleos essenciais surgem como alternativa natural no controle do mosquito *Ae Aegypti*. No entanto, estes óleos apresentam algumas limitações que podem ser superadas a partir da utilização de microemulsões (MEs) que possibilitam o aumento da solubilização do princípio ativo e estabilidade do sistema. A combinação de MEs com hidrogéis poliméricos pode ainda preservar a estrutura em meio aquoso. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar MEs com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA) dispersas em hidrogéis a base de poli (metacrilato de hidroxietila), p(HEMA). OESA tem como principal componente o eugenol que possui potencial efeito larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*. Buscou-se um sistema que em meio aquoso possibilite a liberação do princípio ativo, possibilitando uma redução na proliferação do mosquito vetor. A preparação da ME consistiu na mistura de OESA, tensoativo Tween 80 e água. A incorporação de uma fase inorgânica a partir do metacrilóxi-propil-trimetóxisilano (MPTS) e de agente reticulante dimetacrilato de etileno glicol (EDGMA) influenciou na estrutura final dos hidrogéis poliméricos favorecendo a formação de polímeros mais rígidos e com cadeia reticulada, aumentando a estabilidade térmica, porém diminuindo a capacidade de captação de água (intumescimento). A absorção de água no sistema influencia na cinética de liberação em sistemas matriciais. A composição dos hidrogéis influenciou nos índices de mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* nas primeiras 24 hs, variando de 11,6 a 66,6 % dependendo da combinação presente ou não de MPTS e EDGMA na amostra. Os hidrogéis apresentaram ação larvicida prolongada até 48 hs, variando de 30 a 81,6 % o índice de mortalidade das larvas. Desta forma, o sistema se mostrou promissor para uma ação larvicida prolongada.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, hidrogéis, microemulsão.

ABSTRACT

Due to the negative aspects obtained by the discriminated use of chemical insecticides, essential oils appear as a natural alternative in the control of the *Ae Aegypti* mosquito. However, these oils present some limitations that can be overcome through the use of microemulsions (MEs) that increase the solubilization of the active principle and stability of the system. The combination of MEs with polymeric hydrogels can further preserve the structure in aqueous medium. Thus, the objective of this work was to develop and characterize MEs with essential oil of *Syzygium aromaticum* (OESA) dispersed in hydrogels based on poly (hydroxyethyl methacrylate), p (HEMA). OESA has as main component eugenol that has potential larvicidal effect against the mosquito *Aedes aegypti*. We sought a system that in aqueous media allows the active principle release, enabling a reduction in the proliferation of the mosquito vector. The ME preparation consisted from OESA, Tween 80 (surfactant) and water. The incorporation of an inorganic phase from methacryloxypropyltrimethoxysilane (MPTS) and ethylene glycol dimethacrylate crosslinking agent (EDGMA) influenced the final structure of the polymeric hydrogels favoring the formation of more rigid and crosslinked polymers, increasing the stability thermal, but decreasing the capacity of water uptake (swelling). The water uptake in the system influences the release kinetics in matrix systems. The composition of the hydrogels influenced the mortality rates of *Ae. aegypti* in the first 24 hrs, ranging from 11.6 to 66.6% depending on the combination of whether or not MPTS and EDGMA were present in the sample. The hydrogels presented prolonged larvicidal action up to 48 hours, ranging from 30 to 81.6% of the mortality index of the larvae. In this way, the system proved to be promising for prolonged larvicidal action.

Keywords: *Aedes aegypti*, microemulsions-based hydrogels

Sumário

1 Introdução	1
1.1 Referencial teórico	3
1.1.1 <i>Aedes aegypti</i>	3
1.1.2 Arboviroses	6
1.1.3 Doenças transmitidas pelo <i>Ae. aegypti</i>	7
1.1.4 Estratégias de controle do <i>Ae. aegypti</i>	11
1.1.5 Óleos essenciais	13
1.1.6 Óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> (OESA)	14
1.1.7 Tensoativo	17
1.1.8 Microemulsão	20
1.1.9 Hidrogéis	22
2 Objetivo	26
2.1 Objetivo Geral	26
2.2 Objetivos Específicos	26
3 Material e métodos	27
3.1 Reagentes e solventes	27
3.2 Equipamentos e materiais	27
3.3 Métodos	28
3.3.1 Extração e caracterização do OESA	28
3.3.2 Caracterização estrutural da ME	33
3.3.3 Caracterização estrutural do monolito	33
4 Resultados e discussões	35
4.1 Estudo da composição química e estabilidade térmica do óleo essencial <i>Syzygium aromaticum</i>	35
4.2. Análise reológica das MEs	39
4.3 Caracterização estrutural do monolito	41
4.4 Avaliação da Concentração Letal Média (CL ₅₀) do sistema microemulsionado selecionado e do monolito frente às larvas do <i>Ae. aegypti</i>	48
5 Conclusão	52
6 Produção e perspectiva	53
7 Referências	54

Agradeço, primeiramente, a Deus, que me deu energia e sabedoria para concluir todo esse trabalho;

A minha filha Ana Beatriz, que sem ela jamais teria forças para chegar até aqui. Obrigada filha por me fazer sonhar, sentir melhor, crescer, rir, acreditar, querer mudar e seguir em frente;

A minha família, em especial minha mãe, por dedicar grande parte do seu tempo para cuidar e ajudar na criação da minha filha.

“Nenhuma grande descoberta foi feita jamais sem um palpite ousado.”

(Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

Durante esse dois anos só tenho a agradecer a todos que passaram pelo meu caminho e que com certeza deixaram um pouco de si. Os momentos de alegria serviram para me permitir acreditar na beleza da vida, e os de sofrimento, serviram para um crescimento pessoal único. É muito difícil transformar sentimentos em palavras, mas serei eternamente grata a vocês, pessoas imprescindíveis para a realização e conclusão deste trabalho.

Primeiramente, agradeço a Victor Hugo Vitorino Sarmento, por sempre acreditar na minha capacidade, mesmo quando achava que não era capaz. Certamente não estaria aqui se você não tivesse acreditado no meu potencial. Obrigada por me escutar nos momentos que precisei e por me entender nos momentos de aflição. Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos (pessoais e acadêmicos), orientações, palavras de incentivo, puxões de orelha, paciência (muita paciência) e dedicação. Você é uma pessoa ímpar, onde busco inspirações para me tornar melhor em tudo que faço e irei fazer daqui para frente. Tenho orgulho em dizer que um dia fui sua orientanda.

A minha co-orientadora Prof^a Dr^a Rogéria de Souza Nunes, pelas contribuições e ensinamentos transmitidos, sua ajuda foi de grande importância para a conclusão do trabalho.

Aos meus colegas do LPMH, em especial a Joseane e Kelly, que esteve ao meu lado durante esses dois anos, me apoiando e ajudando sem medir esforços. Amizades que levarei para minha vida.

A Joyce, Kathlyn e Glauciene, integrantes do Departamento de farmácia da Universidade Federal de Sergipe (UFS) em São Cristóvão, pela ajuda e a troca de conhecimentos.

Aos professores Renata, Pércles, Valéria e Roseli pelas sugestões, colaborações e/ou disponibilidade de materiais, equipamentos e laboratórios para a realização de alguns experimentos.

A CAPES pelo apoio financeiro concedido para a execução deste trabalho. Enfim, a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho

A universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós Graduação em Química

Muito obrigada!!!!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
BPO	Peróxido de benzoíla
CHIKV	Vírus Chikungunya
CMC	Concentração Micelar Crítica
DENV	Vírus da Dengue
EGDMA	Dimetacrilato de etileno glicol
EHL	Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo
EM	Emulsão
EMs	Emulsões
GCMS - FID	Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas com detector por ionização de chamas
FTIR	Espectrofotômetro de absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier
HEMA	Metacrilato de hidroxietila
KBR	Brometo de potássio
MS	Ministério da Saúde
MPTS	3-metacrilioxipropil trimetoxisilano
<i>S. aromaticum</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
TWEEN 80	Polissorbato 80
OE	Óleo essencial
OE _s	Óleos Essenciais
OESA	Óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
ZIKV	Vírus Zika
EG0MP	Amostra constituída por (HEMA + BPO + EGDMA)
EG5MP	Amostra constituída por (HEMA + BPO + EGDMA + MPTS)
EG0MP0	Amostra constituída por (HEMA + BPO)
EG5MP0	Amostra constituída por (HEMA + BPO + EGDMA + MPTS)

1 Introdução

O *Aedes aegypti* é um mosquito doméstico com hábitos diurnos e o principal vetor da dengue, da febre amarela, da febre Chikungunya (CHKV) e do Zika vírus (ZIKV) [1]. Tais doenças são causadas por arbovírus, presente principalmente em países tropicais como o Brasil [2]. A transmissão tem aumentado constantemente em grandes cidades em decorrência do processo de urbanização desordenada e, por consequência disso, se tornou um dos mais graves problemas de saúde pública internacional [3].

Atualmente, existem várias estratégias de controle do mosquito tais como a eliminação e prevenção de formação de criadouros, sendo estas mais eficazes e de baixo custo [4, 5]. Outra forma de controle é a utilização de produtos químicos, sendo a forma de eliminação mais utilizada, mas que traz sérios danos ao homem e ao meio ambiente. Já o controle biológico utiliza inimigos naturais como peixes e mosquitos para evitar e reduzir a proliferação do mosquito, sendo uma estratégia de baixo fator de impacto na natureza e muito eficaz [6, 7].

Com o intuito de diminuir os efeitos colaterais provocados pelo uso indiscriminado de inseticidas e larvicidas, tem crescido a procura por extratos vegetais e substâncias naturais que sejam efetivas e de baixo custo no combate ao mosquito. Os óleos essenciais (OEs) representam uma excelente alternativa de larvicidas ecologicamente viáveis. Além disso, os OEs podem apresentar diversas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, dentre outras [8-10].

Dentre os OEs que possuem atividade contra o *Ae. aegypti*, destaca-se o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA), mas conhecido como óleo do cravo da Índia, extraído dos botões floríferos secos. Seu principal componente é o eugenol, que possui propriedades de ação diversas, atuando como efeito anti-inflamatório, cicatrizante, analgésico e inseticida [11, 12]. No entanto, como a maioria dos OEs, apresenta algumas limitações, tais como a baixa solubilidade [13], instabilidade na presença de luz, ar, calor, umidade e metais. A utilização de sistemas estabilizados ou formados por tensoativos

(micelas, emulsões, microemulsões, lipossomas e cristais líquidos) pode ser um excelente meio para minimizar as características limitantes dos OEs [14, 15].

Tensoativos são moléculas anfifílicas devido à existência de duas regiões com polaridades distintas, na mesma molécula, sendo uma região polar e hidrofílica e outra região apolar e lipofílica. Tais substâncias são capazes de diminuir a tensão superficial entre dois líquidos imiscíveis como água e óleo, por meio da formação de um filme interfacial formando microemulsões (MEs). Os tensoativos em MEs são responsáveis por melhorar significativamente a solubilidade de substâncias hidrofóbicas. Estes são sistemas termodinamicamente estáveis e isotropicamente translúcidos. [16].

As MEs podem ser divididas em três tipos, como óleo em água (o/a), água em óleo (a/o) e bicontínua [17, 18]. Estes sistemas podem ser utilizados para a liberação de fármacos e como carreadores de moléculas insolúveis como o OESA.

Embora tenham esta propriedade, não é viável utilizar as MEs diretamente em meio aquoso, pois em contato com a água há uma rápida desestruturação química, liberando o princípio ativo de imediato. Desta forma, a inserção de MEs em sistemas poliméricos seria uma melhor alternativa, aumentando a resistência mecânica do material e retardando a liberação do óleo.

Os hidrogéis são excelentes materiais de estudo em função da possibilidade de alteração na sua forma ou volume, tornando-os atraentes para uma ampla gama de aplicações, como na área farmacêutica e biomédica. A importância desses materiais se deve à semelhança de suas propriedades físicas com alguns tecidos vivos, tais como elevado teor de água, elástica e baixa tensão interfacial, podendo ser aplicados em cateteres, sensores (eletrodos), substratos de culturas de microorganismos, membranas de hemodiálise, lentes de contato flexíveis e enxertos vasculares. [19-21]. Portanto, o uso desses hidrogéis poliméricos podem melhorar as propriedades

mecânicas de MEs no contato com o meio aquoso e solubilizar o princípio ativo sem comprometer sua estrutura inicial.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo obter e caracterizar microemulsões incorporados em hidrogéis(HEMA) visando obter um sistema que em contato com o ambiente aquoso, no qual permita a liberação do eugenol (princípio ativo do OESA), molécula responsável pelo controle das larvas do *Ae. Aegypti*.

1.1 Referencial teorico

1.1.1 *Aedes aegypti*

O mosquito *Ae. aegypti* (Linnaeus 1762) é originário da África e devido a sua grande capacidade de adaptação a novas condições impostas pelo homem, o mosquito se espalhou rapidamente por diversos países por meio de navios negreiros durante a colonização. Em consequência dos crescentes números de focos já registrados em diversos países e das doenças transmitidas pelo mosquito, atualmente é considerada umas das grandes preocupações da saúde pública mundial. As principais doenças transmitidas pelo mosquito são a dengue, a febre amarela, a Chikungunya e o Zika vírus. [2, 22]

O mosquito para se desenvolver depende fortemente de alguns fatores climáticos, como altas temperaturas e umidade. Tais fatores associados ao desenvolvimento urbano descontrolado, à resistência aos inseticidas e à baixa eficácia de controle, contribuíram para o aumento do *Ae.aegypti* [23-25].

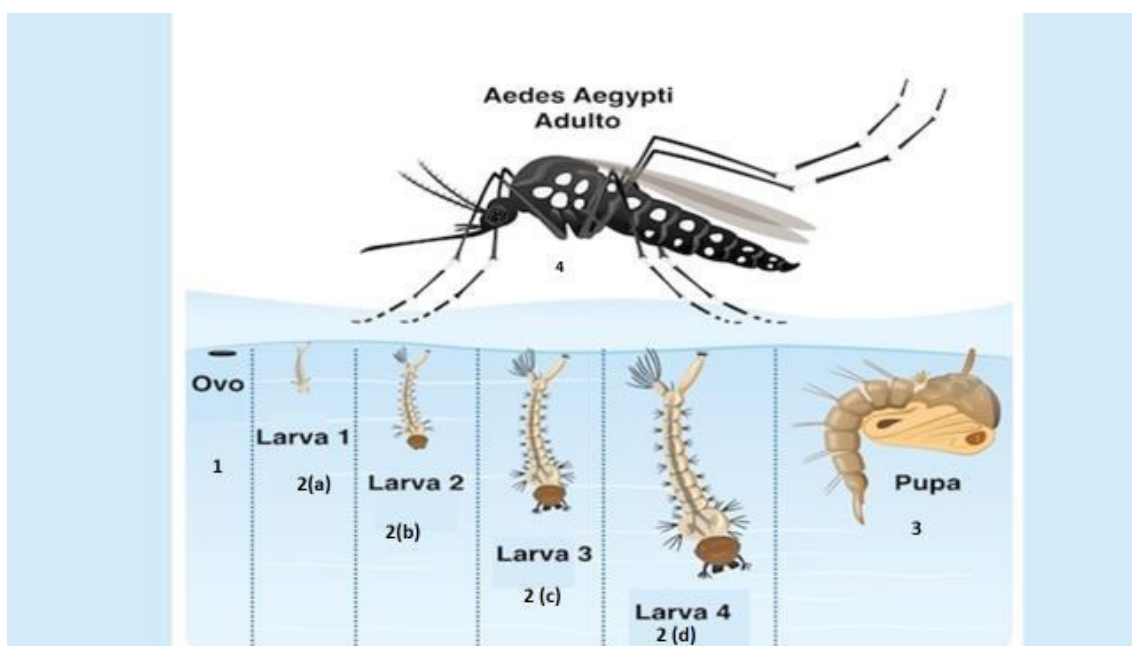
No Brasil, os primeiros estudos de combate ao mosquito *Ae.aegypti* foram realizadas no século XX, em função de uma grande epidemia da febre amarela urbana iniciada principalmente na cidade do Rio de Janeiro, que em seguida se alastrou por vários outros estados. Com as intensas campanhas de ações de controle, em 1955 o mosquito foi considerado erradicado no país. No entanto, outros países não tiveram a mesma preocupação, e anos seguintes o mosquito foi reintroduzido no país, especificamente no ano de 1976 na cidade de Salvador, no estado da Bahia. Os motivos que desencadearam uma nova

epidemia do *Ae. aegypti* no Brasil estão relacionadas com as altas falhas na vigilância epidemiológica e das mudanças sociais e ambientais, decorrentes da urbanização descontrolada e desordenada presentes nessa época [26-28].

O *Ae. aegypti* é um mosquito doméstico, com hábitos diurnos e utilizam preferencialmente recipientes com água parada e limpa para depositar seus ovos. Assim, a escolha do local de depósito desses ovos é um fator crucial para a distribuição do mosquito nos criadouros e sua subsequente dispersão em diferentes áreas geográficas. O mosquito apresenta grande capacidade de adaptação a outros tipos de criadouros, como por exemplo, as bromélias, utilizadas como plantas ornamentais nas casas e jardins, que armazenam água entre as folhas. [29-31]

Os mosquitos se desenvolvem por meio de metamorfose completa, e o seu ciclo evolutivo se dá em quatro estádios biológicos: ovo, larva (quatro fases larvárias), pupa e adulto (Figura 1), sendo que os três primeiros estádios são aquáticos [32].

Figura 1: Ciclo Biológico do *Ae. Aegypti* dividido em 4 estádios: 1- Depósitos dos ovos; 2(a, b, c, d) - Fase larvária; 3- Pupa **Fonte:** Tua saúde [33]



Assim que os ovos são depositados, já se inicia o desenvolvimento do embrião que se completa em torno de 48 horas, em condições favoráveis de umidade e temperatura. Uma vez completado o desenvolvimento embrionário, os ovos são capazes de resistir a longos períodos de dessecação, que podem prolongar-se por mais de um ano. A capacidade de resistência dos ovos de *Ae. aegypti* à dessecação é um sério obstáculo para sua erradicação, permitindo que os ovos sejam transportados a grandes distâncias em recipientes secos, tornando-se assim o principal meio de dispersão do inseto (dispersão passiva) [34]

Como o *Ae. aegypti* é um inseto holometabólico, a fase larvária é o período de alimentação e crescimento, possuindo quatro estágios evolutivos. As larvas passam a maior parte do tempo alimentando-se principalmente de material orgânico acumulado nas paredes e fundo dos depósitos. A duração da fase larvária depende da temperatura, disponibilidade de alimento e densidade das larvas no criadouro. Em condições favoráveis, o período entre a eclosão e a pupação pode chegar até cinco dias.

No estágio da pupa não há a necessidade de alimentos para se desenvolver, sendo nesta fase que ocorre a metamorfose do estágio larval para o adulto. A pupa é o último estágio da fase aquática e possui o aspecto de vírgula. No entanto, quando inativas se mantêm na superfície da água, flutuando, o que facilita a emergência do inseto adulto. O estágio pupal dura, geralmente, de dois a três dias. Para passar da fase do embrião até a fase adulta (ovo, larva e pupa) demora em média dez dias [35].

A fase adulta do *Ae. Aegypti* (Figura 2) representa a fase reprodutora do inseto, chegando a medir menos de um centímetro e possui corpo escuro com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais. Normalmente os mosquitos *Ae. Aegypti* se alimentam de frutos e sucos de alguns vegetais, mas após a cópula, a fêmea precisa de sangue para que seus ovos fiquem maduros. Após se alimentar com sangue em 3 dias ela põe seus ovos. Seu tempo médio de vida é de 30 a 35 dias e durante este período cada fêmea pode colocar cerca de 3000 ovos [32].

Figura 2: Imagem do mosquito do *Ae. Aegypti* adulto. **Fonte:** INFO-E, 2016 [37]



1.1.2 Arboviroses

As arboviroses são doenças causadas por arbovírus, podendo ser transmitida aos seres humanos e outros animais por meio da picada de um artrópode hematófago, tais como os insetos e os carrapatos. Existem mais de 545 espécies de arbovírus suspeitos de transmitir doenças, entretanto, mais de 150 estão relacionados com a transmissão aos seres humanos. A maioria dos arbovírus pertence às famílias *Flaviviridae*, *Bunyaviridae* e *Togaviridae*, e podem estar presentes em todos os continentes, principalmente nos trópicos, devido às condições climáticas favoráveis da manutenção do ciclo viral. Entretanto, no decorrer dos anos, os arbovírus se tornaram ainda mais perigosos devido às mudanças climáticas, favorecendo a proliferação dos mosquitos transmissores de doenças graves e trazendo sérios danos à saúde pública [38, 39].

O Brasil por se tratar de um país tropical, populoso e com grandes diversidades de flora e fauna, oferece condições ideais para a existência de diferentes espécies de arbovírus. Por esse motivo, representam um problema sério para a saúde pública, agravados pelos recentes surtos da CHKV e do ZIKV [40-43].

1.1.3 Doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti*

1.1.3.1 Febre amarela

A febre amarela (FA) é uma doença arboviral, infecciosa e endêmica principalmente nas regiões da África e na América do Sul. A Nigéria é um dos países da África com maior índice de infecções, devido à baixa taxa de vacinação inferior a 50%. O alto índice populacional e as dificuldades que essas pessoas enfrentam no país, são fatores importantes para o grande número de casos da doença [44, 45].

Historicamente, existem dois ciclos de transmissão da FA, o silvestre e o urbano, que diferem entre si quanto ao agente envolvido na transmissão, hospedeiro amplificador e área de ocorrência. No ciclo silvestre, os vetores são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e sua transmissão envolve primatas não humanos (macacos). Já no meio urbano, a disseminação se dá por meio do mosquito *Ae. aegypti* e ocorre de forma direta homem-mosquito [46-48].

A FA é uma doença febril aguda, sendo que em sua forma mais grave pode levar à morte. Atualmente não existe tratamento específico para ela, no entanto utiliza-se a vacina como principal estratégia da saúde pública para controle da doença, imunizando o paciente por pelo menos 10 anos. Há outras formas de controle da FA urbana, como a prevenção e a eliminação dos criadouros dos vetores transmissores. [50-52].

No Brasil, a FA silvestre tem aumentado o número de casos nos últimos anos por causa do crescente contato do ser humano com áreas de floresta, uma vez que o vírus se encontra na mata, presentes nos mosquitos e algumas espécies de macaco. Os locais de risco abrangem as bacias dos rios Amazonas, Araguaia-Tocantins e Paraná. Desde então, o controle da doença é vista como um desafio para a saúde pública, no qual houve a necessidade de campanhas de vacinação para reduzir o número de casos da doença, com o objetivo de extingui-la no país [53,54].

O aumento do número de casos de FA em 2017 despertou a atenção das autoridades em Saúde do país. O vírus já era considerado erradicado dos grandes centros urbanos desde 1942, mas a doença voltou a assustar os brasileiros, com a proliferação de casos de FA silvestre nos últimos meses. Atualmente são 1.987 casos suspeitos, desses, 450 continuam em investigação, 586 foram confirmados e 951 descartados. Do total, 282 evoluíram para óbito, sendo 190 confirmados, 49 em investigação e 43 descartados. Devido ao aumento exorbitante dos números de casos de FA o Ministério da Saúde tem enviado doses extras da vacina aos estados que estão registrando casos suspeitos da doença, além de outros localizados na divisa com áreas que tenham notificado casos. [55]

1.1.3.2 Dengue

O vírus da dengue (DENV), um membro do gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*, é o agente etiológico da dengue, que é transmitida pelo *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, classificados em quatro sorotipos DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4, este último é o agente causador da dengue grave. Em 2013 foi confirmado um novo sorotipo em um paciente infectado da Malásia, cuja infecção foi adquirida na epidemia de 2007. A partir disso, foi classificado um novo sorotipo, classificado como DEN-5 [3, 56-58].

Os casos de dengue cresceram drasticamente nos últimos anos, tornando-se endêmicas em mais de 100 países da África, das Américas, da Região Leste do Mediterrâneo, do Sudeste Asiático e do Pacífico Ocidental. Portanto, estima-se que 40% da população mundial, localizados em regiões com surtos da doença, estão em risco [59]. O seu quadro clínico varia dos casos mais simples, como febre, náuseas, dor de cabeça, erupção cutânea, dores musculares e articulares; até formas mais graves, como a dengue hemorrágica, sendo responsável pelos 10 % dos casos já registrados. Tal infecção muitas vezes pode evoluir até a morte. Devido a esse aumento exponencial na escala mundial nos últimos 35 anos e dos efeitos maléficos causados pela doença, se tornou um dos principais problemas da saúde pública no mundo [29, 59-61].

No ano de 1981, na cidade de Boa Vista, em Roraima, houve a primeira grande epidemia de dengue no Brasil e em pouco tempo atingiu quase 100% do território brasileiro. No ano de 2002, com cerca de 225.000 mil casos notificados, sendo que 1728 casos de dengue hemorrágica e 61 mortes só no Rio de Janeiro. [28, 62]

Segundo Guzmán (2006), o número de pacientes infectados durante as epidemias entre os anos de 1981 a 2005 nos países da América aumentou consideravelmente no intervalo de 3 a 5 anos, sendo que no ano de 2005 o Brasil foi o que mais relatou casos de infecção do vírus transmissor da dengue.

Em 2016, foram registrados 170.103 casos prováveis de dengue no país até a Semana Epidemiológica (SE), no mês de fevereiro. Nesse período, a região Sudeste registrou o maior número de casos prováveis, sendo notificados 96.664 casos, correspondente a (56,8%) em relação ao total do país, seguida das regiões Nordeste com 25.636 (15,1%), Centro-Oeste com 25.246 casos (14,8%), Sul com 13.522 casos (7,9%) e Norte com 9.035 casos (5,3%). Nesse mesmo período, foram confirmados 27 casos de dengue grave e 482 casos de dengue com sinais de alarme, sendo que a região com maior número de registros de casos de dengue grave e dengue com sinais de alarme é a região Centro-Oeste, onde 7 foram considerados graves e 270 com sinais de alarme. Foram confirmados 9 óbitos por dengue, o que representa uma redução no país de 91,3% em comparação com o mesmo período de 2015, quando foram confirmados 103 óbitos [63].

Atualmente, juntamente os avanços da ciência e da tecnologia, levaram a uma maior exploração de conhecimentos, havendo um progresso notável no desenvolvimento de novas abordagens para a prevenção, diagnóstico e tratamento da dengue. Com isso, há vários estudos em andamento sobre vacinas que sejam eficazes para os quatro sorotipos, com o objetivo de controlar ou até erradicar a dengue. A vacina é recomendada em localidades com alta incidência da doença e sua imunização é voltada para pessoas de 09 a 45 anos de idade [65,65].

1.1.3.3 Chikungunya

Na Tanzânia durante os anos de 1952 e 1953, surgiu uma doença semelhante a dengue. No entanto, para descobrir a origem da doença, o vírus responsável pela epidemia foi isolado a partir dos soros humanos retirados na fase aguda da doença. Em seguida foram estudados, tendo como resposta a doença Chikungunya ou vírus chikungunya (CHIKV) [66]. O CHIKV é originário da família *Togaviridae*, do gênero *Alphavirus*, considerado o principais vetor a espécie *Aedes* [67,68]. A origem do nome Chikungunya foi dada em virtude da intensidade dos sintomas das dores nas articulações, que, no idioma africano Makonde, significa “andar curvado”. Os sintomas da doença são febre alta de início súbito e debilitante, inchaço e fortes dores nas articulações, principalmente punhos, tornozelos e cotovelos [70,71].

1.1.3.4 Zika

O Zika vírus é um arbovírus pertence ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae*, no qual existe um total de sete grupos de mosquitos transmissores de vírus, de acordo com ao Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV). O Vírus foi isolado pela primeira vez em 1947 em um macaco Rhesus na floresta Zika, em Uganda. Durante décadas, o vírus infectou macacos em uma estreita faixa da região equatorial da Ásia e da África, contabilizando no mínimo duas linhagens do ZIKV, a africana e a asiática. Foi a partir do contato dos seres humanos com esses primatas infectados que o vírus se propagou, trazendo sérios danos à saúde pública [72,73].

O primeiro surto de ZIKV relatado fora desses continentes foi nos Estados Federados da Micronésia, localizado no Norte do Pacífico [83]. No final de 2013 ao início de 2014, a Polinésia Francesa tem enfrentado o maior surto da doença já relatado no país. Durante esse surto, o distúrbio neurológico grave chamado de síndrome de Guillain-Barré foi associada ao ZIKV [74, 75].

Dessa forma, o Brasil foi o primeiro país da América do Sul a apresentar relatos de casos de ZIKV, afetando a região de Camaçari na Bahia e em São Paulo, seguido pelos estados do Rio Grande do Norte, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro. Em outubro de 2015, o Brasil associou a infecção

causada pelo vírus à microcefalia, acarretando uma grande preocupação para a saúde pública [76].

A dificuldade na confirmação ou exclusão da infecção ainda prejudica o entendimento da história natural da doença, da relação com a microcefalia e também com a síndrome de Guillain-Barré. Outro fator importante, os sintomas muitas vezes são confundidos com outras arboviroses, como dengue ou CHIKV, por isso a dificuldade do diagnóstico rápido. No momento, não existe vacina nem tratamento específico para ZIKV, restando apenas a necessidade de melhorar o controle vetorial dos locais infestados com *Ae. aegypti*, e assim, minimizar o impacto dessas doenças na população [77].

1.1.4 Estratégias de controle do *Ae. aegypti*

Discussões recentes sobre o controle do *Ae. aegypti* apontam para a necessidade de maiores investimentos e estratégias para conscientizar a população sobre a necessidade de mudanças de comportamento que visem o controle do vetor. A conscientização continua sendo um método eficaz, de baixo custo e que previne epidemias de grandes dimensões, visto que, até o momento não existem vacinas para prevenção contra as doenças transmitidas pelo mosquito [29, 78,79].

No Brasil, os responsáveis pelo controle e erradicação dos criadouros do mosquito são os Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e Agentes de Combate a Endemias (ACE), que em parceria com a população trabalham para eliminar os focos do mosquito e romper a sua cadeia de transmissão das doenças. Entretanto, diante das epidemias persistentes e das sérias dificuldades que o país enfrenta, são utilizadas algumas estratégias de controle, como o mecânico, o biológico e o químico [80-82]

1.1.4.1 Controle mecânico

Visam a partir de ações como saneamento básico e educação ambiental, a remoção ou a destruição dos vetores, por meio da redução do número de criadouros artificiais no ambiente (pneus, vasos de plantas, coleta adequada de lixo). Um exemplo de controle mecânico é a utilização de

armadilhas adesivas que atraem os mosquitos a partir de feromônios. Além de capturar os mosquitos por meio de uma borda adesiva, essas armadilhas induzem os mosquitos fêmeas a colocarem seus ovos em um meio contendo larvícida, evitando assim que estes sejam depositados no meio ambiente [83].

1.1.4.2 Controle biológico

O controle biológico é baseado na utilização de inimigos naturais do vetor, ou seja, que se alimentam de larvas de mosquito, como certos peixes e microcrustáceos, resultando na redução da proliferação do mosquito. Esse método tem como vantagens: não toxicidade, ser natural e biodegradável. No entanto, só pode ser utilizado contra as formas imaturas dos vetores, o que nem sempre está relacionado com a capacidade de transmissão da doença. [7,84].

Para o controle do *Ae. Aegypti*, as metodologias mais utilizadas são o emprego de peixes larvívoros (*Gambusia af inis* e *Poecilia spp.*) e inseticida biológicos *Bacillus Thuringiens isisraelensis* (Bti), descoberto na década de 1970 como larvícida. O Bti encontra-se disponível comercialmente e vem sendo utilizado no Brasil em regiões em que já foi detectada resistência do *Ae. aegypti* aos temefós. No entanto, mesmo o Bti sendo eficaz, não há evidência comprovada que esse método possa impactar na redução da mortalidade do vetor ao longo prazo [78,85].

1.1.4.3 Controle químico

Desde os anos 50 até os dias atuais, esse controle tem sido utilizado com a ajuda de produtos químicos sintéticos, seja como larvicidas para combater as larvas do mosquito ou como inseticidas , combatendo o mosquito. Os compostos utilizados pelos programas de controle são os organofosforados e os piretróides, oferecendo como principais vantagens a rapidez e a facilidade com que atuam [86].

Contudo, a eficácia dos inseticidas é ameaçada pelo aumento da resistência dos mosquitos, sendo que seu uso intensivo resulta em um evento mutacional que causa uma alteração hereditária no perfil de susceptibilidade de

uma dada população. Assim, alteram-se os traços fisiológicos, comportamentais e morfológicos dessa população, que são selecionados como consequência do uso prolongado e extensivo de um composto químico ao longo do tempo. O público alvo principal é o *Ae.aegypti*, no qual esse controle deu início do século passado, devido um surto de febre amarela localizada em Cuba e no Panamá [87-91]

O controle químico no Brasil ainda é um dos principais mecanismos de controle do vetor. Entre os principais problemas no uso indiscriminado desses inseticidas ao longo dos anos, destacam-se: o surgimento de insetos resistentes capazes de tolerar doses que normalmente causariam mortalidade aos insetos susceptíveis, levando ao aumento das doses e maior frequência de aplicação, além dos danos causados aos seres humanos e ao meio ambiente [6, 92-94].

Portanto, para amenizar esses efeitos maléficos, tem crescido a procura por extratos vegetais e substâncias naturais que sejam efetivas, de baixo custo e atóxicas. Assim, tem surgido vários estudos com os OEs com a finalidade de erradicar ou diminuir os focos do mosquito do *A. aegypti*. Segundo os relatos de Simas *et al* 2004, o extrato hexânico de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho), OE utilizado para o controle das larvas do *Aedes aegypti*, mostram resultados promissores na redução das larvas e evidencia a importância da lipofilicidade de terpenos para a atividade larvicida em *A. aegypti* [94]. Dessa forma, os OEs podem representar uma saída eficiente para esses problemas, frente ao mosquito vetor [2, 8, 10].

1.1.5 Óleos essenciais

Nos últimos anos, os OEs obtidos de partes das plantas têm sido considerado fontes com grande potencial de substâncias biologicamente ativas, tendo propriedades distintas como antimicrobiana, antitumoral, ação sobre o sistema nervoso central, além de ação inseticida. Com o crescente interesse por esses óleos, vários estudos foram realizados e atualmente já foram descobertos aproximadamente 3000 tipos de OEs, tendo grande importância comercial na área dos cosméticos, alimentos e nas indústrias farmacêuticas.

Para a obtenção desses óleos são utilizadas diversas técnicas, mas a principal e a mais utilizada é a destilação por arraste de vapor d'água [95,96].

Os OEs são líquidos oleosos voláteis, tendo como característica seu odor forte e aromatizante, são lipossolúveis, solúvel em solventes orgânicos com uma densidade geralmente inferior que a da água. Na maioria dos casos, são obtidos a partir de material vegetal (flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, madeira, frutas e raízes), podendo ser encontrados em países de clima quente. Além disso, na natureza os óleos essenciais desempenham um papel importante na proteção das plantas como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra herbívoros. [9, 97,98].

Os compostos que compõe os OEs são constituídos por complexos componentes químicos naturais, podendo conter até 60 compostos em concentrações bastante diferentes. No entanto, na maioria dos casos existem componentes em concentrações mais elevadas que são denominados majoritários, podendo estar presente em concentrações de até 90% [9]. São geralmente constituídos de misturas variadas, compostas principalmente por terpenóides e inúmeros hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular, ácidos, álcoois, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas [99,100].

1.1.6 Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA)

O cravo da índia (*Syzygium aromaticum*) é originário do Extremo Oriente, localizada nas ilhas Molucas (Indonésia). Pertence à família das *mirtáceas*, sendo uma planta de porte arbóreo, com copa alongada e que pode atingir em média 8-10 metros. Possui odor fortemente aromático, sabor ardente e característico, folhas ovais grandes e tem de 7 a 11 centímetros de comprimento, flores pequenas e de cor vermelha que se apresentam em numerosos grupos de cachos terminais (Figura 3) [11, 101].

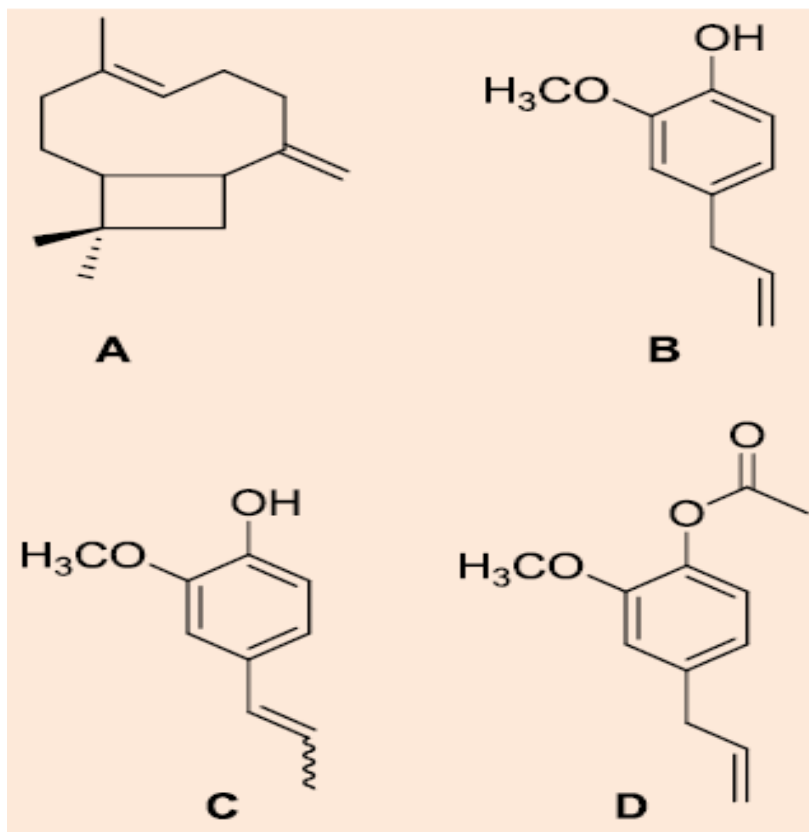
Figura 3: Árvore, folhas, frutos e botões florais secos do cravo da Índia. **Fonte:** Affonso *et al*, 2012 [12].



Provavelmente o cravo da Índia foi introduzido no Brasil na época da colonização portuguesa, mais precisamente no Sul da Bahia, principal região de cultivo, tornando o estado o maior produtor da especiaria no Brasil [12]. Seus botões florais são bastante consumidos como aromatizantes e para fins culinários e na forma de chá, são utilizados por apresentarem propriedades carminativa e estimulante das funções digestivas [102]

Os principais produtos derivados do cravo da Índia disponíveis no mercado nacional hoje em dia são o OE puro ou produtos derivados dele, cuja aplicação varia da medicinal a culinária [11]. Seu principal constituinte do óleo é o eugenol, um composto fenólico designado quimicamente como (4-Allyl-2-methoxyphenol), com fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$ e massa molar de 164,231 $g.mol^{-1}$. Outros componentes presentes no óleo são acetato de eugenila e β -cariofileno, que juntos com eugenol aparecem como constituinte majoritário do óleo (Figura 4). [103,104].

Figura 4- Estruturas químicas do β -cariofileno (A), do eugenol (B), do isoeugenol (C) e do acetato de eugenila (D). **Fonte:** Affonso *et al*, 2012 [11].



Devido a sua estrutura molecular, o eugenol possui propriedades anti-inflamatória, cicatrizante, analgésica e inseticida eficaz no combate a pulgões, ácaros e pragas de artrópodes [105]. Na medicina tem o papel fundamental no tratamento de náuseas, flatulências, indigestão e diarreia. Com propriedades antibactericidas é também usado como anestésico e antisséptico para o alívio de dores de dente [104]. Além de seus efeitos nessas aplicações, os extratos de cravo da índia reduzem o número de *Escherichia coli* e outras bactérias durante a armazenagem de sucos, leites e chás [106- 109].

Atualmente, como as doenças transmitidas por mosquitos estão entre as principais causas de mortalidade no mundo, surgem várias estratégias para combater o desenvolvimento dos mosquitos transmissores, uma delas é o controle larvicida, considerada a fase mais fácil de controlar, comparando-a com a fase adulta. A maioria dos larvicidas usados hoje em dia exigem alguns cuidados na aplicação e uma delas está relacionada com a toxicidade da água.

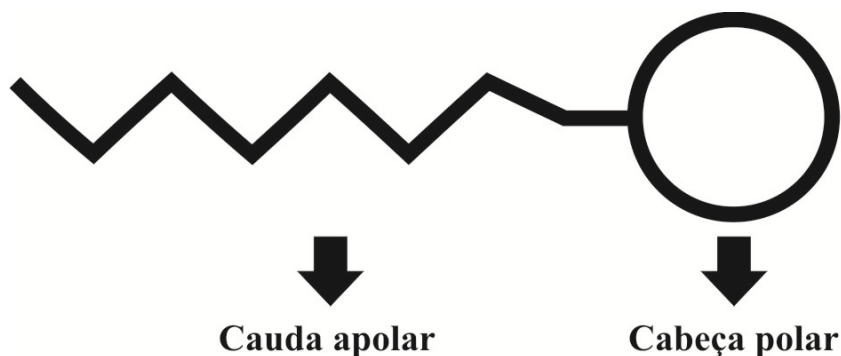
Logo, o objetivo de utilizar o OESA é desenvolver um produto com boa eficácia e que não contamine o meio ambiente, por exemplo, podendo ser utilizado em caixas d'água. Assim, alguns estudos apontam o OESA como uma grande fonte promissora para o combate das larvas do *Ae. aegypti*. Portanto, além de reduzir os focos do mosquito e possuir baixa toxicidade, é um produto natural acessível e de baixo custo [15,110-112].

O OESA apresenta limitações, no qual apresenta instabilidade a altas temperaturas, a umidade e ao ar, podendo ser facilmente oxidado em contato com a luz. Possui baixa solubilidade em água, entretanto, é solúvel em solventes orgânicos, e quando exposto ao ar, mesmo à temperatura ambiente, evapora. Como seu uso é limitado devido à baixa solubilidade, sistemas estabilizados por tensoativos podem ser uma alternativa para minimizar tais limitações, uma vez que agem como carreadores de moléculas insolúveis [14,15].

1.1.7 Tensoativo

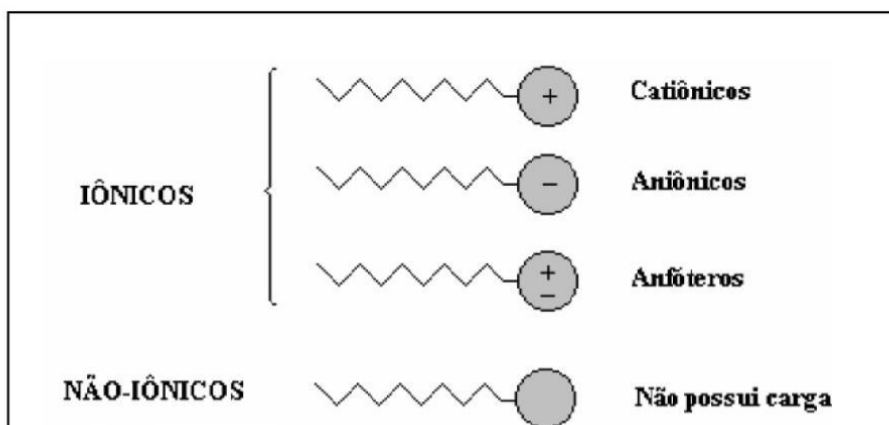
Os tensoativos, também chamados de surfactantes, são substâncias naturais ou sintéticas, constituídas por um grupo lipofílico (apolar) e um grupo hidrofílico (polar), apresentando assim uma estrutura anfifílica (Figura 5) [17]. O grupo polar é constituído pelos átomos de oxigênio, enxofre, nitrogênio ou fósforo (O, S, N, P), como parte de um grupo funcional como carboxilato, sulfonato, sulfato, amônio, fosfato, etc. Grupos polares não-iônicos como hidroxila (-OH) ou éter (-O-) não são muito polares e assim devem ocorrer diversas vezes para formar um grupo polar adequado, como poliálcool ou poliéter. Já o grupo apolar é constituído principalmente por hidrocarbonetos do tipo alquila ou alquila-arila com 12 a 20 átomos de carbono. Seu principal objetivo é agir como conciliador entre compostos sem afinidade, como a água e o óleo, alterando a tensão interfacial [113, 114]

Figura 5: Representação esquemática de um tensoativo. **Fonte:** Ferreira *et al*, 2014 [13].



Os tensoativos podem ser classificados em três tipos: iônicos (aniônicos, catiônicos e anfóteros, também chamado de zwitteriônicos) e não iônicos (Figura 6). Os tensoativos iônicos são aqueles que possuem um ou mais grupos funcionais, que em solução aquosa se dissociam em íons carregados positivamente ou negativamente na superfície ativa. Os tensoativos não-iônicos não formam íons em solução aquosa, já que os grupos hidrofílicos são formados por grupos polares não ionizáveis. Já os tensoativos anfóteros são as moléculas orgânicas cujo grupo hidrofílico pode carregar-se negativamente ou positivamente, ou não estar carregado, dependendo do pH do meio que se encontra.

Figura 6: Representação esquemática dos tensoativos. **Fonte:** Silva *et al*, 2008 [115].



O aumento da concentração do tensoativo reduz a tensão interfacial até um valor determinado, ou seja, para cada tipo de tensoativo existe uma concentração na qual todas as superfícies já estão ocupadas e a quantidade de tensoativo excedente atinge uma concentração mínima necessária para o início de formação de micelas. Essa concentração, portanto, é chamada de concentração micelar crítica (CMC). [116].

A CMC depende do pH, temperatura, força iônica e estrutura do tensoativo, favorecendo a formação de diferentes estruturas de escala macroscópica e microscópica, tais como as MEs, cristais líquidos e emulsões [117-118.]

Nas microemulsões uma tensão interfacial (γ_i) muito baixa ($\gamma_i < 10^3$ dina/cm) é um pré-requisito para a formação de MEs. A adsorção do tensoativo na área interfacial causa uma pressão bidimensional (π) que diminui a pressão interfacial de acordo com a Equação 1:

$$\gamma_i = (\gamma_{o/a})_a - \pi \quad (1)$$

aonde $(\gamma_{o/a})_a$ é a tensão interfacial da microemulsão óleo em água (O/A) após o potencial químico do tensoativo em cada fase ter sido equalizado por partição. Consequentemente, com o aumento da área interfacial por um aumento de π , a γ_i aproxima de 0 (zero), favorecendo a dispersão de uma fase na outra. Esse resultado indica que os tensoativos de caráter muito hidrofílicos ou lipofílicos são inapropriados para a formulação de MEs, mesmo com ajuda de cotensoativo, pois mesmo com a adição desses compostos, a tensão interfacial não diminuirá suficientemente para a formação de um sistema microemulsionado [14].

O uso de tensoativos em meios de dissolução é uma das principais formas para aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis ou ligeiramente solúveis em água. Com isso, na ME proposta pelo trabalho utiliza o TWEEN 80, um tensoativo não iônico com a finalidade de aumentar a hidrossolubilidade do OESA [119]. Tal tensoativo, frequentemente usado em alimentos e cosméticos, tem como aspecto visual um líquido amarelo viscoso, sendo solúvel em água, etanol, óleo de semente de algodão, óleo de milho, acetato de etilo, metanol e tolueno. Para melhorar a estabilidade da ME, diminuindo a repulsão entre as

partes hidrofílicas do tensoativo, é inserido um cotensoativo na formulação, nesse caso foi usado o etanol, com proporção de 1:1 (T/C) .

1.1.8 Microemulsão

Microemulsão (ME) é uma dispersão coloidal monofásica, com baixa viscosidade, definida como sistema termodinamicamente estável, isotrópico. Constitui de um sistema translúcido, compostos por dois líquidos imiscíveis, usualmente água e óleo, estabilizados por um filme de compostos tensoativos, frequentemente combinado com cotensoativo, localizados na interface entre óleo e água. Acredita-se que durante a obtenção de um sistema microemulsionado o papel do cotensoativo é reduzir a tensão interfacial otimizando a estabilização termodinâmica das gotículas da fase interna da microemulsão [18, 12, 120].

A lei da termodinâmica diz que a energia livre de Gibbs (G) deve se tornar negativa para a formação espontânea de uma ME termodinamicamente estável. Esse fenômeno, em condições de temperatura constante, pode ser expresso conforme a Equação 2.

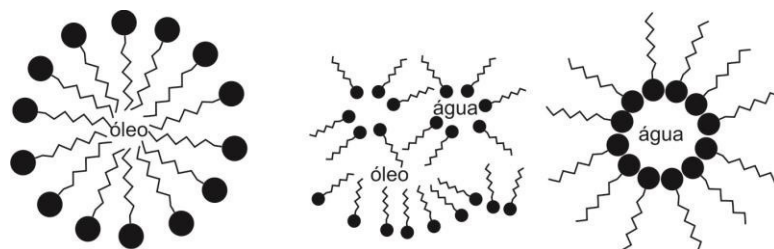
$$\Delta G = \gamma_i \Delta S \quad (2)$$

aonde ΔS é a mudança da área interfacial. Como a área interfacial não pode ser 0 (zero), a tensão interfacial deve reduzir a um ponto que a energia livre do sistema também reduza. Como já foi dito anteriormente para a formação da ME, a γ_i tem uma tendência para se aproximar de zero; consequentemente, a variação de energia livre também tende a zero e, com isso, o sistema fica estável termodinamicamente ($\Delta G \rightarrow 0$). Quando a γ_i for negativo, ΔG será < 0 e a microemulsificação será espontânea [14].

As MEs diferem das emulsões convencionais por meio do tamanho das suas partículas, medindo na faixa de 5 a 140 nm, enquanto que o diâmetro das gotículas de uma emulsão é da ordem de 0,1 μm a 100 μm . Apresenta uma camada mononuclear de composta por moléculas anfifílicas que envolvem as microgotículas com uma membrana. Tais sistemas geralmente formam-se espontaneamente, apresentando agregados estruturais muito menores do que o comprimento de onda de luz, que é a razão para a sua transparência [17, 121,122].

As MEs podem ser classificadas em: óleo em água (O/A), aonde gotículas de óleo são envolvidas por uma região contínua em água, água em óleo (A/O), na qual gotas de água são envolvidas por óleo e, bicontínua, aonde no qual há a formação de uma estrutura sem ser esférica (gotícula). Essa formação pode ser observada por três mecanismos: pelo aumento gradativamente do volume da fase interna do sistema, durante a migração de O/A para A/O ou de A/O para O/A e quando o volume das duas fases estão próximos. (Figura 7) [14, 15, 123]. Porém, em cada caso as moléculas dos tensoativos se comportam de forma que as cabeças polares (parte hidrofílica) estejam voltadas para a fase aquosa, e suas caudas apolares (parte hidrofóbica) para a fase oleosa. No entanto, o tipo de estrutura das MEs depende da natureza dos componentes (tensoativo, cotensoativo, água e fase oleosa) e das condições termodinâmicas (temperatura e pressão) [124].

Figura 7: Representação esquemática dos três tipos de ME mais comumente encontradas: óleo/água (O/A), bicontínua e água/óleo (A/O). **Fonte:** Ferreira *et al*, 2015 [13].



Os sistemas microemulsionados geralmente estão sujeitos a sofrer transição de fase com diluição da fase aquosa ou evaporação de algum constituinte volátil. Esse efeito pode modificar o comportamento de fase dos sistemas, assim como gerar sistemas com diferentes viscosidades [125].

A utilização dos sistemas microemulsionados trazem inúmeras vantagens, como: aumento da solubilização e das taxas de dissolução de princípios ativos; boa estabilidade termodinâmica; protegem moléculas instáveis da degradação; promovem liberação controlada e sustentada; possuem elevada superfície de contato, facilitando, assim, o transporte extra vascular e transdérmico de princípios ativos [126,127]. Porém, esse sistema

apresenta algumas limitações, uma delas é a baixa estabilidade mecânica e baixa viscosidade, podendo limitar suas aplicações, como por exemplo, na liberação de fármacos em materiais transdérmicos. Com isto, a combinação das propriedades dos hidrogéis e das MEs tem como objetivo melhorar as propriedades mecânicas do material e permitir uma liberação efetiva do princípio ativo [128,129].

1.1.9 Hidrogéis

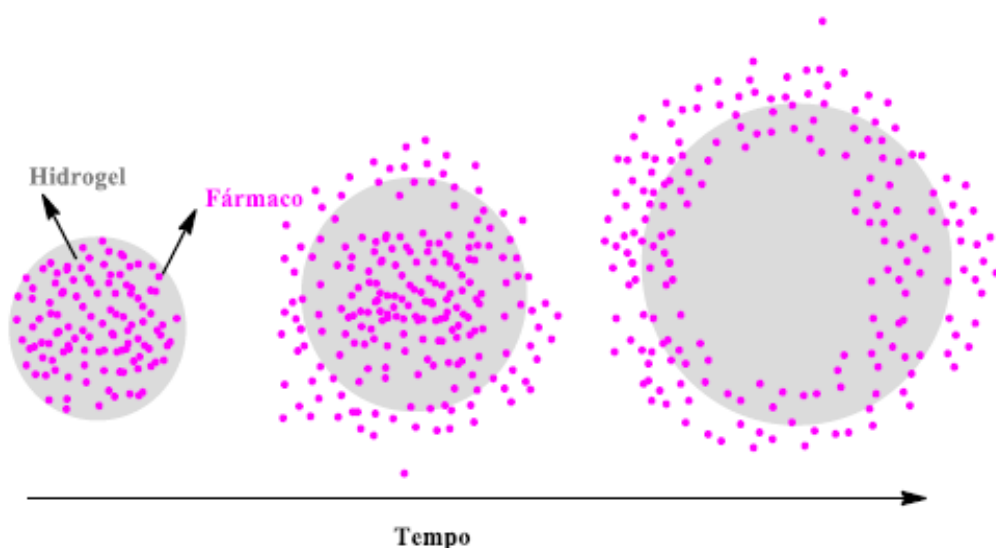
Os hidrogéis são formados por polímeros e a sua solubilização é impossibilitada em função da presença de ligações cruzadas, chamadas de reticulantes, unindo uma cadeia polimérica à outra. Os reticulantes também são os responsáveis pela estrutura tridimensional do hidrogel, e eles podem ser físicos (interação de van der Waals, ligações de hidrogênio entre o agente reticulante e as cadeias poliméricas) ou químicos (ligações covalentes entre eles).

O hidrogel é um excelente material de estudo em função da possibilidade de alteração na sua forma ou volume, intumescendo, desintumescendo ou curvando-se em resposta a um estímulo externo aplicado. Assim, pode sofrer variação de pH, temperatura, força iônica ou potencial elétrico, podendo retornar à sua forma inicial quando o material é submetido ao meio original. Contudo, a natureza sensível ao pH dos hidrogéis é estudada extensivamente para aplicações de liberação de princípios ativos. Portanto, alguns dos parâmetros que influenciam na deformação e no tempo de resposta desses materiais são as massas moleculares, a hidrofilicidade do polímero, a área e a funcionalização do monômero empregado e a densidade de carga do polímero [130].

A solubilidade é uma propriedade de equilíbrio que descreve a interação entre o fármaco e a matriz do polímero, ou seja, quanto maior esta interação, menor será a velocidade de difusão, devido a uma maior retenção do princípio ativo. Porém, a solubilidade depende de alguns fatores, como ligações, polaridade ou presença de estruturas de cadeias poliméricas altamente densas. No entanto, quando o polímero hidrofílico entra em contato com fluidos

(o inchamento da estrutura polimérica), isto é, aumenta a flexibilidade das cadeias de polímero e consequentemente a difusividade do princípio ativo. Desta forma, pode se dizer que a liberação do fármaco ocorre quando o hidrogel aumenta de tamanho, ou seja, quando há absorção de água no sistema (Figura 8). [131].

Figura 8: Representação esquemática do mecanismo de liberação de fármacos por difusão. **Fonte:** Costa, 2013 [132].

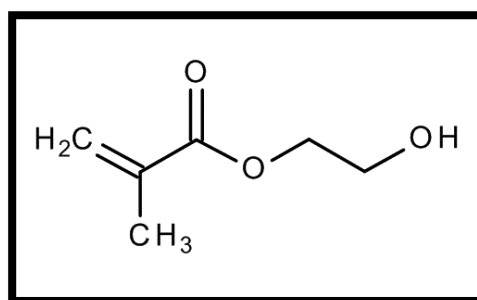


Atualmente, alguns estudos são desenvolvidos com os hidrogéis à base de ME, tendo como uma das aplicações o desenvolvimento de materiais transdérmicos como sistema de liberação de fármacos. Esses materiais apresentam vantagens, como clareza óptica, tempo de liberação no local de aplicação, tamanho da gota de óleo de nanoescala (até 100 nm) e melhor solubilização do fármaco (fármaco hidrofóbico) [133]. No entanto, as MEs são difíceis de estabilizar na superfície da pele devido à baixa viscosidade. Por isso, MEs são incorporadas aos hidrogéis para superar este problema e obter uma melhor resposta terapêutica do fármaco aplicado, visto que sua absorção foi facilitada [134,135]. Segundo Okur *et al* 2016, os componentes da microemulsão incorporados no hidrogel podem reduzir a barreira de difusão da pele e melhorar a permeação do fármaco, sendo um material promissor para a entrega transdérmica e dérmica de fármacos.

Outra aplicação das MEs incorporados nos hidrogéis é na fabricação de lentes de contatos. Segundo o estudo realizado por Gulsen *et al* 2005, para reduzir a perda e melhorar a eficácia do fármaco nas lentes de contato, realizou-se uma combinação do HEMA com o etilenoglicol-di-metacrilato, conhecido como EGDMA (agente reticulante) e iniciador térmico de polimerização (BPO). O sistema adotado se mostrou promissor, aonde as nanopartículas cheias de fármaco foram aprisionadas nas matrizes de hidrogel p-HEMA e em seguida liberada. Assim, o fármaco disperso em microemulsões óleo/água incorporadas em hidrogéis de HEMA, torna-se um veículo efetivo para encapsular um fármaco hidrofóbico, devido a grande solubilidade destes fármacos na fase oleosa.

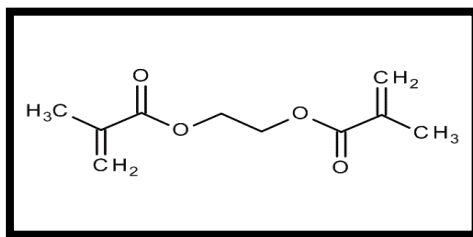
Hidroxietil metacrilato (HEMA) é um monômero funcional com diversas aplicações como mostra a estrutura química na Figura 9, sendo utilizadas na fabricação de lentes de contatos e nos sistemas adesivos entre outros [138,139]. Logo, por possuir algumas vantagens como comportamento hidrofílico, ter baixo peso molecular e apresentar uma alta fluidez, são utilizados juntamente com MEs para melhorar as propriedades mecânicas do sistema e obter uma liberação prolongada do princípio ativo.

Figura 9: Fórmula estrutural do Hidroxietil metacrilato (HEMA). **Fonte:** O autor, 2017.



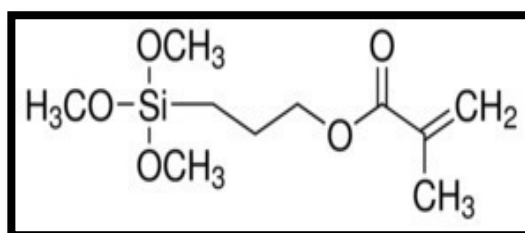
A função do EGDMA (Figura 10) no sistema é melhorar a estabilidade química e térmica, a rigidez estrutural, aumentando o grau de reticulações. Assim, com a elevação dessas reticulações, reduz-se a porosidade do material obtido, a permeabilidade à água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas [140].

Figura 10: Fórmula estrutural do etilenoglicol-di-metacrilato (EGDMA). **Fonte:** O autor, 2017.



Com base nesse trabalho, utilizamos a ME óleo/água, no qual usamos o OESA como fase oleosa, sendo estabilizado por um tensoativo e um cotensoativo (TWEEN 80 e etanol, respectivamente). A ME preparada foi incorporada no polímero (p-HEMA) com o intuito de liberar o eugenol, componente principal do óleo, favorecendo o controle das larvas do *Ae. Aegypti*. No entanto, para melhorar as propriedades mecânicas do material foi adicionado o EGDMA e uma fase inorgânica (MPTS) com a finalidade de transformar o sistema de liberação promissor [141,143]. A adição do MPTS na estrutura tem como finalidade melhorar as propriedades mecânicas do material, como também aumentar as reticulações do sistema. Na Figura 11 seguem representada a fórmula estrutural do 3-metacrilioxipropil trimetoxissilano (MPTS).

Figura 11: Fórmula estrutural do 3-metacrilioxipropil trimetoxissilano (MPTS). **Fonte:** O autor, 2017.



2. Objetivo

2.1 Objetivo Geral

Desenvolvimento e caracterização de microemulsões com óleo essencial *Syzygium aromaticum* dispersas em hidrogéis com ação larvícida contra o mosquito *Aedes aegypti*..

2.2 Objetivos Específicos

- Extrair e caracterizar o óleo essencial de *S. aromaticum* (OESA);
- Avaliar a influência das condições de síntese sobre a estrutura final do hidrogel;
- Avaliar a atividade larvícida do hidrogel contra larvas do *Ae. aegypti* .

3 Material e métodos

3.1 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes empregados neste trabalho foram:

- Metacrilato de hidroxietila (HEMA, ALDRICH®);
- Polissorbato 80 (TWEEN 80, DINÂMICA®);
- Dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA, ALDRICH®) ;
- Álcool etílico absoluto P.A (DINÂMICA®);
- Peróxido de benzoíla (BPO, VETEC®);
- 3-metacrilioxipropil trimetoxisilano (MPTS, ALDRICH®);
- Água acidificada pH 1;
- Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA);
- Água deionizada Mili-Q (MEGAPURITY®);
- Brometo de potássio (KBr, DINÂMICA®);
- Acetona P.A (NEON®).

3.2 Equipamentos e materiais

Os equipamentos e materiais empregados neste trabalho foram:

- Agitador magnético (GOSTIRRER®);
- Análise Termogravimétrica (TA INSTRUMENTS®, Q50);
- Balança analítica (OHAUS® APX 200);
- Barras magnéticas;
- Béqueres;
- Clevenger modificado;
- Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas com detector por ionização de chamas GCMS - QP (SHIMADZU®, 2010 Plus);
- Espátulas;
- Espectrofotômetro de absorção na região do Infravermelho por Transformada de Fourier FTIR (SHIMADZU®, IRPRESTIGE-21);
- Estufa microprocessada de secagem (QUIMIS® Q317M);
- Micropipetas (GOPET®);

3.3 Métodos

3.3.1 Extração e caracterização do OESA

O OE foi obtido a partir dos botões florais secos do *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia), em um único lote adquiridos na feira livre da cidade de Itabaiana. No processo de extração, realizado no Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Sergipe, foram utilizados 200 gramas de cravos da Índia os quais foram triturados em liquidificador comum para aumentar a eficiência e o rendimento da extração, e levados a um aparelho extrator do tipo Clevenger modificado por um período de 4 horas a temperaturas abaixo de 60 °C. Foram utilizados dois litros de água destilada misturados aos cravos triturados e destilados no balão volumétrico acoplado ao aparelho. O óleo foi acondicionado em frasco âmbar e armazenado sob refrigeração.

3.3.1.1 Identificação dos Constituintes do OE

O OESA foi analisado no Condomínio de Laboratórios de Química Multiusuários (CLMQ/CG) utilizando um GCMS-QP2010 Plus Ultra, Shimadzu, equipado com um amostrador automático AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas usando uma coluna capilar de sílica fundida Rtx®-5MS Restek (polissiloxano 5%-difenil-95%-dimetil) de 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno (d.i.), 0,25-mm de espessura de filme, em um fluxo constante de hélio (99,999 %) com taxa de 1,2 mL.min⁻¹. O volume de injeção utilizado foi de 1 µL (10 mg mL⁻¹), com uma razão de split de 1:30. A temperatura do forno foi programada a partir de 50 °C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4°C / min, à 170 °C, em seguida, a 10 °C/ min até 300 °C, finalizando com uma isoterma de 5,25 min a 300 °C.

3.3.1.2 Preparação das MEs

Para a preparação da MEs, misturas com proporções apropriadas de tensoativo (TWEEN 80), cotensoativo (etanol) com uma razão de 1:1 foram preparadas, sendo mantidas sob agitação magnética por um período de 1 hora. Em seguida foram adicionados o óleo e a fase aquosa mantendo-os nas

mesmas condições por mais 30 minutos para completa homogeneização, observando o aspecto visual das amostras [13].

Várias amostras (Figura 12) foram preparadas variando as proporções de fase aquosa e fase oleosa composta por óleo, tensoativo e cotensoativo (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1). Essa proporções indicam que com o aumento da porcentagem da fase aquosa, ou seja, da água no sistema, há uma diminuição da fase oleosa (OESA, TWEEN 80 e etanol). Assim, a proporção 1:9 possui 90% de fase oleosa e 10% de fase aquosa, já a proporção 9:1 é o inverso, possui 90% de fase aquosa e 10% de fase oleosa. A Tabela 1 mostra as diferentes proporções utilizadas na preparação das MEs, variando a fase aquosa e a fase oleosa.

Figura 12: MEs preparadas em diversas proporções. **Fonte:** O autor, 2017.



Na Tabela 1 são apresentadas as diferentes proporções (em %) utilizadas na preparação das MEs, variando a fase aquosa composta por água e a fase oleosa composta por OESA, tensoativo (TWEEN 80) e o cotensoativo (etanol). Assim, foram preparadas MEs com maior teor de água e menor de óleo (9:1), como vice versa, maior quantidade de óleo de menor de água (1:9).

Tabela1: Diferentes proporções (em %) de fase aquosa: fase oleosa + tensoativo/cotensoativo utilizados na preparação das MEs

Proporções	Fase aquosa	Óleo	Tensoativo/cotensoativo
Mês	(%)	(%)	(%)
1:9	10	9	81
2:8	20	8	72
3:7	30	7	63
4:6	40	6	54
5:5	50	5	45
6:4	60	4	36
7:3	70	3	27
8:2	80	2	18
9:1	90	1	9

3.3.1.3 Preparação dos brancos

Em um recipiente fechado adicionou-se sob agitação, quantidades apropriadas de HEMA e BPO até total solubilização em seguida a adição o EGDMA, agitando por mais 30 minutos. Nos brancos que continha a fase inorgânica foi adicionado o MPTS e a água acidificada pH1. As quantidades utilizadas na preparação dos brancos está descrito na Tabela 2.

Tabela 2: Quantidades utilizadas de cada componente na preparação dos brancos.

Branco	BPO(g)	HEMA	EGDMA	MPTS	pH1
		(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
B1	0,04	1,8	-	-	-
B2	0,04	1,8	1,0	-	-
B3	0,04	1,8	-	3,55	3,55
B4	0,04	1,8	1,0	3,55	0,75

3.3.1.4 Obtenção do monolito de hidrogel com ME

Em um recipiente fechado adicionou-se sob agitação, quantidades apropriadas de HEMA e BPO (4,5 mL e 0,04 g respectivamente) até total solubilização, em seguida a adição de 0,5 mL da ME e agitou-se por mais 30 minutos. Por fim, a mistura foi levada para estufa a 50 °C por 48 horas para início das reações de polimerização até formação de um gel úmido que após secagem a temperatura ambiente formou um corpo sólido monolítico (Figura 13). A razão que foi utilizada entre hidrogel e a ME foi de 9:1 (H9ME1), ou seja, composta por 90% de hidrogel e 10% da ME. Esse mesmo procedimento foi realizada com as demais MEs (Tabela 3). Entretanto apenas as amostras que continha o hidrogel e as MEs 5:5, 7:3, 8:2 e a 9:1 formaram gel, sugerindo que quantidade de óleo exerce influência sobre esta formação. A partir destas observações adotou-se a ME 5:5 para os estudos, por ser a proporção máxima de fase oleosa obtida sem comprometer a formação de gel.

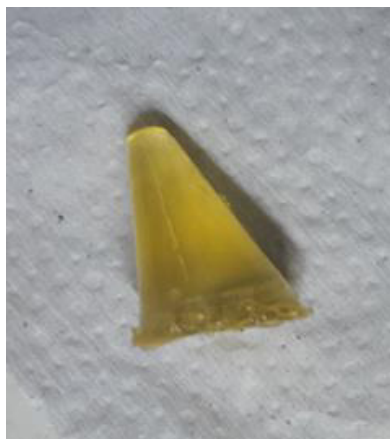
Figura 13: Imagem dos monolitos com a utilização de diferentes MEs, sendo que a ME 9:1 possui maior teor de água e menor de óleo e a 5:5 possui maior teor de óleo e menor de água.



Com a utilização da ME 5:5 preparamos diferentes amostras com a adição do HEMA e do BPO e em outras adicionamos um agente reticulante (EGDMA) para melhorar o grau de reticulação da sistema. Para avaliar a influência EDGMA, quantidades apropriadas foram adicionadas a mistura HEMA/BPO sob agitação magnética em seguida a ME 5:5 foi adicionada e

mantida sob agitação por 30 minutos. A Figura 14 mostra o monolito depois de submetido a temperatura.

Figura14: Imagem do monolito no final do processo. **Fonte:** O autor, 2017



Para avaliar a influência da presença de fase inorgânica, adicionou-se a mistura HEMA/BPO quantidades apropriadas de MPTS e água acidificada a pH 1 sob agitação magnética por 30 minutos em seguida a ME 5:5 foi adicionada e mantida sob agitação por mais 30 minutos.

As misturas finais tanto com e sem a adição de EDGMA, quanto as com e sem adição de MPTS foram submetidas a temperatura de 50 °C por 48 horas. A Tabela 3 apresenta as quantidades utilizadas no preparo dos monolitos e as suas respectivas nomenclaturas que serão utilizadas no decorrer deste trabalho.

Tabela 3: Quantidades utilizadas para a preparação do monolito.

Amostras	BPO	HEMA	EGDMA	H ₂ O pH1	ME	MPTS
	(g)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
EG0MP	0,020	0,90	-	0,465	0,10	1,75
EG5MP	0,020	0,90	0,50	0,465	0,10	1,75
EG0MP0	0,020	0,90	-	0,465	0,10	-
EG5MP0	0,020	0,90	0,50	0,465	0,10	-

3.3.2 Caracterização estrutural da ME

3.3.2.1 Análise Reológica

A análise reológica é uma das técnicas mais utilizadas para caracterização de estruturas a nível macroscópico. As propriedades reológicas das MEs são afetadas por diversos fatores, dentre os quais se destacam o volume de fase oleosa, a distribuição do tamanho das gotículas e a reologia interfacial do filme de tensoativos [18].

Os fluidos podem ser classificados quanto à relação entre a taxa e a tensão de cisalhamento. Podem ser de dois tipos: os Newtonianos, quando a relação entre a taxa de cisalhamento e a taxa de deformação é constante, caracterizados por uma linha reta que passa pela origem e os não Newtonianos a viscosidade varia de acordo com a taxa de cisalhamento aplicada no material.

As medidas reológicas foram realizadas à temperatura de 25°C em um Reômetro de tensão controlada, modelo DHR da TA instruments, com geometria cone-placa, sendo o cone de aço inoxidável, com diâmetro de 60 mm e ângulo de 2 graus, e espaçamento de 50 mm entre o cone e a placa. O ensaio de escoamento foi realizado variando a velocidade de cisalhamento de 0 a 200 s⁻¹. Cada amostra foi cuidadosamente aplicada à placa inferior, assegurando o mínimo cisalhamento e permitindo um tempo de repouso de 1 minuto antes de cada determinação. As medidas foram realizadas no Laboratório de Catálise (LabCat) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Campus Professor Alberto Carvalho em Itabaiana-SE. Para ajuste das curvas e determinação dos parâmetros reológicos, o software gráfico Origin 8.0 foi utilizado.

3.3.3 Caracterização estrutural do monolito

3.3.3.1 Análise Termogravimétrica

As análises de TG dos pós obtidos a partir da maceração dos monolitos foram realizadas no Laboratório de Pesquisa com Materiais Híbridos (LPMH) da UFS, Campus Professor Alberto Carvalho. Utilizou-se uma balança termogravimétrica TGA Q50, fabricada pela TA Instruments, utilizando

atmosfera dinâmica de Argônio (Ar) e taxa de aquecimento de 10 °C/min desde a temperatura ambiente até 600 °C. As amostras foram suportadas em um cadinho de Platina. Como as análises foram realizadas sob atmosfera dinâmica de Ar, os eventos observados são referentes unicamente à decomposição térmica das amostras, uma vez que o gás utilizado é inerte e, como tal, não reage com as amostras ou com os radicais gerados durante o processo de decomposição delas.

O software TA Universal Analysis® foi empregado na obtenção das curvas derivadas da massa em função da temperatura (DTG), as quais foram utilizadas por descrever melhor os eventos térmicos que ocorrem nas amostras. A fim de separar os picos sobrepostos em determinadas regiões das curvas DTG, ajustou-se essas regiões utilizando o software Origin 8.0.

3.3.3.2 Análise de FTIR

As amostras foram caracterizadas por FTIR, utilizando o espectrofotômetro da marca SHIMADZU, IRPRESTIGE-21. Todas as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr prensadas sob pressão de 2,76 MPa utilizando uma prensa Modelo C da Carvel Laboratory Press. As medidas foram realizadas no Condomínio de Laboratórios de Química e Multiusuários 2 (CLQMII), da Universidade Federal de Sergipe, Campus São Cristóvão.

3.3.3.3 Ensaio de intumescimento

Para o ensaio de intumescimento as amostras foram pesadas e, em seguida imersas em recipientes aberto contendo 20 mL de água destilada a temperatura ambiente. O ensaio foi realizado em triplicata, sendo retiradas e secas com ajuda de um papel filme, e em seguida pesadas nos tempos 15min, 30min, 60 min, 90 min, 120 min e 180 min. Após a pesagem, as amostras foram colocadas novamente na solução. Para o cálculo do grau de intumescimento foi utilizada a Eq. (1):

$$\% Int = \frac{M_f - M_i}{M_i} * 100 \quad (1)$$

aonde,

Mi = massa inicial antes do intumescimento

Mf = massa final depois do intumescimento

Ao término do experimento, os dados de pesagem foram comparados entre os diferentes períodos.

3.3.3.4 Avaliação da atividade larvicida frente às larvas do *Ae. aegypti*

Para a realização da atividade larvicida, as larvas da cepa de Rockefeller de *Ae. aegypti* foram adquiridas no insetário do Laboratório de Entomologia e Parasitologia tropical (LePat) do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe. Para determinação da atividade larvicida, o monolitos foram imersos em recipientes contendo 100 mL de água destilada com 20 larvas Rockefeller L3/L4. Os ensaios foram realizados em triplicata e após os tempos de 24 e 48 horas, foi verificado o número de mortalidade das larvas. A análise estatística foi realizada a partir da determinação da concentração letal capaz de reduzir 50% das larvas (CL₅₀) e então calculado o intervalo de confiança [144].

4 Resultados e discussões

4.1 Estudo da composição química e estabilidade térmica do óleo essencial *Sizygium aromaticum*

A composição química do óleo essencial de OESA foi obtido a partir da análise cromatográfica do GC-MS e GC-FID e os cromatogramas são apresentados na Figura 15 a) e b), respectivamente. Foi possível identificar 4 componentes principais, sendo o eugenol com 60,02% (majoritário), seguido do E-cariofileno com 33,69% e α -humuleno 3,33% (Tabela 4). Apesar de muitos autores descreverem o eugenol como principal componente e responsável pelo uso farmacêutico do *S. aromaticum*, outros compostos foram identificados e quantificados como constituintes do extrato etanólico [11].

Segundo Mazzafera 2003, os OESA apresentam a seguinte ordem de variação: eugenol (70 a 85%), acetato de eugenol (15%) e β -cariofileno (5 a

12%). No entanto, a concentração dos componentes presentes no OE, principalmente o eugenol, varia de acordo com a porção do vegetal analisada e a região na qual a planta foi cultivada. A amostra de *S. aromaticum* coletada no estado de Sergipe apresentou baixo teor de eugenol e acetato de eugenol e alto teor de β -cariofileno em comparação com os resultados da literatura. Porém, segundo Oliveira 2009, uma amostra de *S. aromaticum* coletada na região sul de Ilhéus, apresentou como componentes majoritários o eugenol (82,47%), o β -Cariofileno (10,78 %), o α -Humuleno (1,44%) e o Acetato de eugenila (1,89%), no qual a ordem dos percentuais dos constituintes se assemelha com os resultados obtidos [145, 146]

Figura 15: Cromatograma a) GC-MS e b) GC-FID do óleo essencial de *S. aromaticum*. **Fonte:** O autor

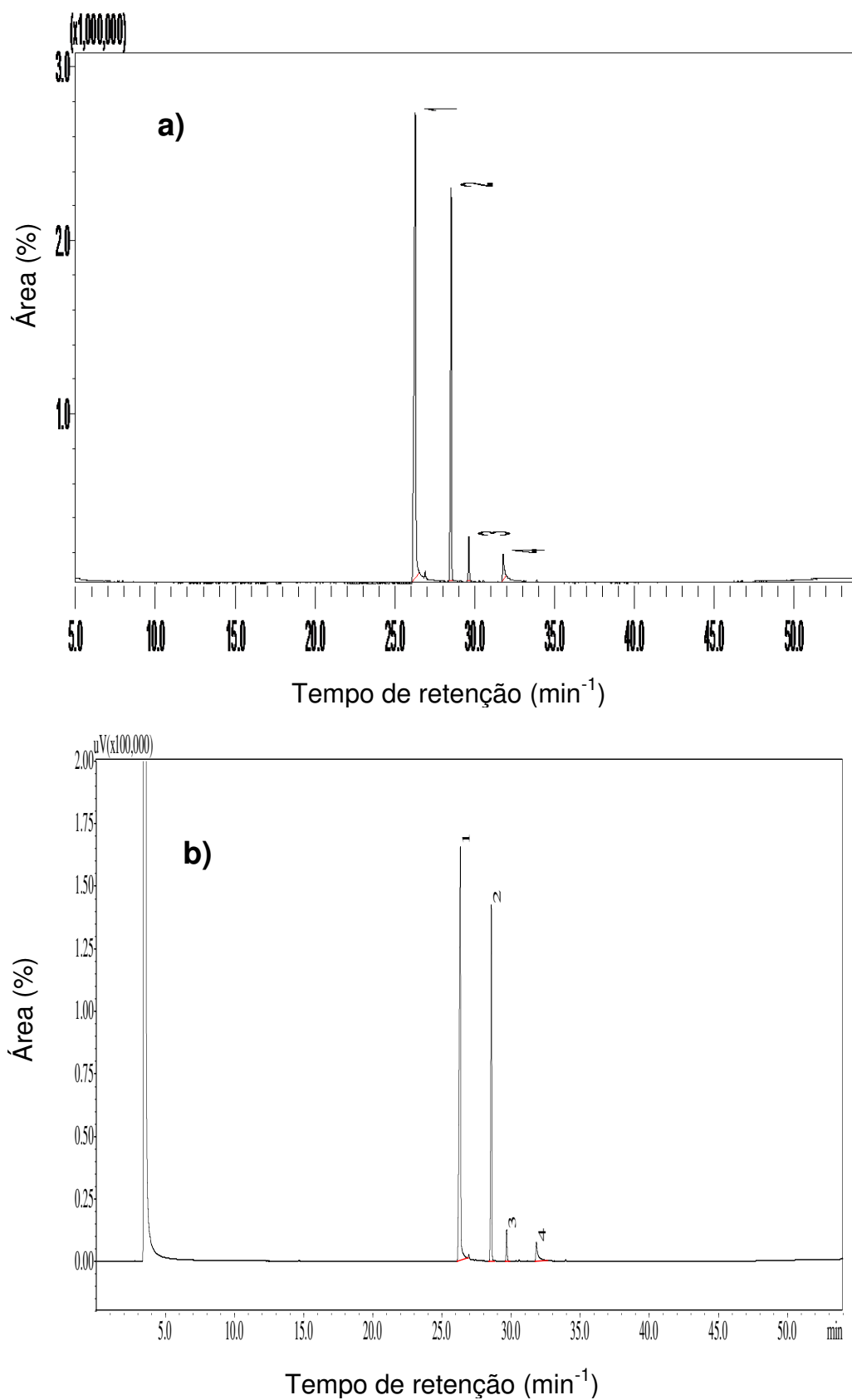
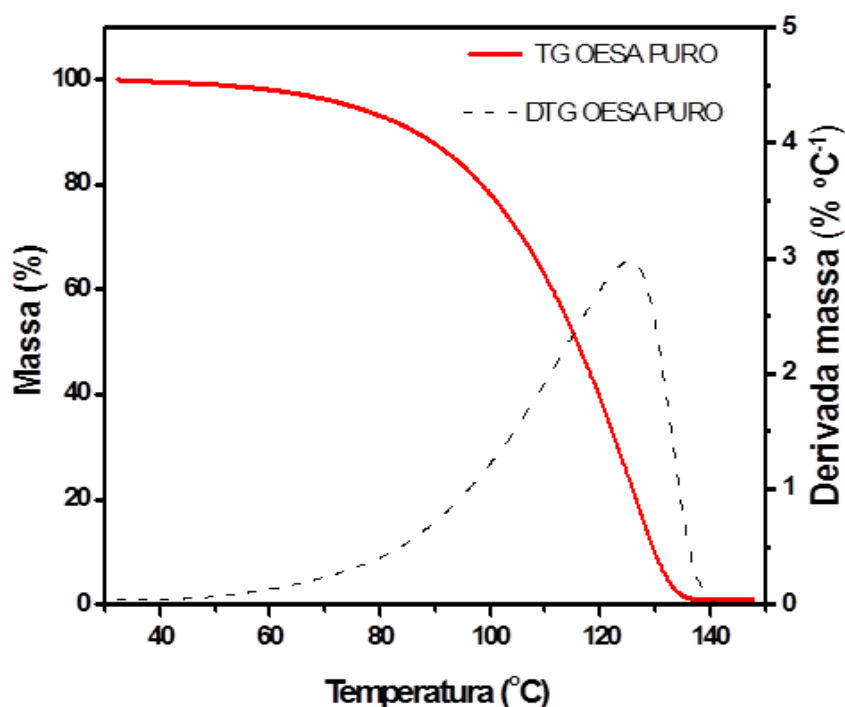


Tabela 4: Constituintes químicos do óleo essencial.

Pico	TR (min)	Composto	%GC- MS	%GC- FID	IRR exp.*	IRR lit.**
1	26,290	eugenol	60,02	60,03	1357	1356
2	28,535	E-cariofileno	33,69	33,28	1418	1417
3	29,635	α -humuleno	3,33	2,73	1452	1452
4	31,790	acetato de eugenol	2,96	3,94	1518	1521

A Figura 16 apresenta as curvas de TG e DTG do OESA. Como pode ser observado, a degradação térmica do óleo inicia em torno de 55 °C com máxima degradação em 125 °C. A temperatura utilizada para a obtenção dos monólitos neste trabalho foi de 50 °C, ou seja em uma temperatura que pode ser utilizada na síntese pois haverá alterações consideráveis na estrutura do óleo. Pereira, 2017, ao avaliar a análise térmica do óleo eugenol encontrou pico de decomposição em torno do óleo 212,79°C

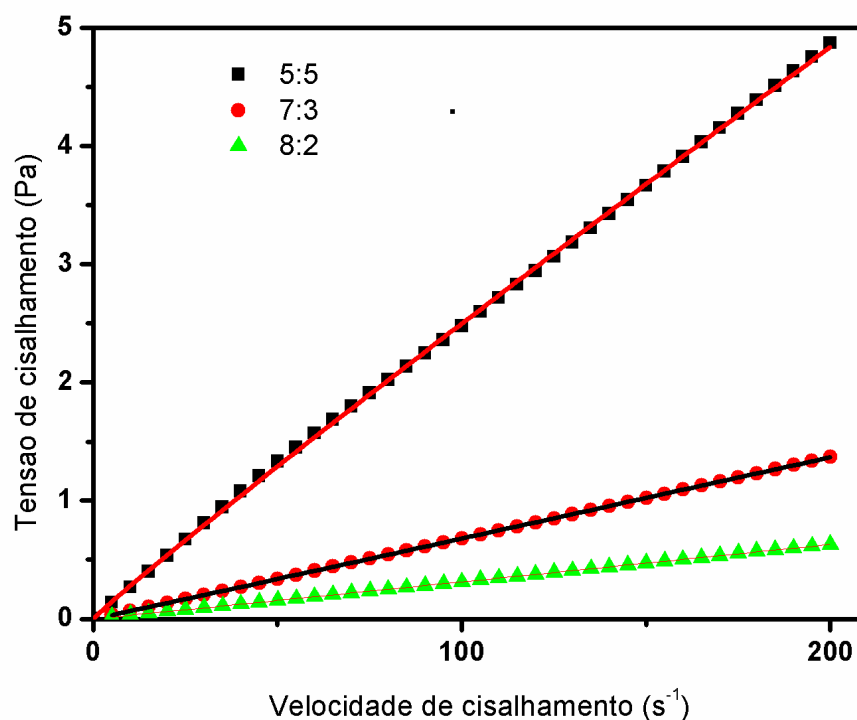
Figura 16: Análises de TG e DTG do óleo essencial de *S. aromaticum*. **Fonte:** O autor, 2016.



4.2. Análise reológica das MEs

A Figura 17 apresenta a tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento para diversas MEs preparadas. Como podemos observar, exceto para a ME 5:5, todas apresentam uma linearidade que é característica de comportamento de fluídos Newtonianos. Fluídos newtonianos quando deformados, a tensão de cisalhamento gerada é diretamente proporcional à taxa de deformação. Esses fluídos possuem uma relação estritamente linear entre a tensão e a velocidade de cisalhamento. A ME 5:5 apresenta um pequeno desvio, indicando que este sistema microemulsionado tem características não newtonianas (pseudoplástico). Isto pode ser explicado pela maior quantidade de óleo existente nesta composição em relação a outras.

Figura 17: Tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento de amostras com diversas composições de ME. **Fonte:** O autor, 2016.



Para determinação dos parâmetros reológicos, as curvas foram ajustadas utilizando a seguinte lei de potência (Eq.2)

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (2)$$

Sendo σ a tensão de cisalhamento e $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento. Os valores de K correspondem ao índice de consistência (numericamente igual à viscosidade) e os de n correspondem ao índice de fluxo que define o comportamento reológico (newtoniano ou não newtoniano), sendo que $n = 1$ o sistema é considerando newtoniano, $n < 1$, não-newtoniano pseudoplástico e $n > 1$, não newtoniano dilatante. Após o ajuste os parâmetros reológicos foram obtidos e são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Parâmetros reológicos das MEs encontrados a partir do ajuste das curvas de tensão de cisalhamento em função da velocidade de cisalhamento, utilizando a lei de potência (Eq 1).

ME	K (Pa.s)	n	Comportamento do fluido
5:5	0,03	0,95	Não-Newtoniano
7:3	0,007	1,0	Newtoniano
8:8	0,003	1,0	Newtoniano

A partir da Tabela 4 nota-se que com a diminuição da fase aquosa e o aumento da mistura (fase oleosa/ +Tensoativo/cotensoativo) há um aumento da viscosidade. Como podemos observar, o valor de K aumenta conforme aumenta a quantidade de óleo na ME. Portanto, formação dessas estruturas (MEs) depende do tensoativo, do cotensoativo e da natureza do óleo. Assim, a escolha adequada e as concentrações desses componentes tornam-se extremamente importantes para a orientação desses sistemas [18].

O valor de n para ME 5:5 é igual a 0,95 indicando a sua tendência a comportamento não-newtoniano, o que explica o pequeno desvio observado da curva. Todas as outras ME apresentaram $n = 1$ confirmando o comportamento newtoniano discutido anteriormente. Por exemplo para as formulações dermocosméticas, o fluxo pseudoplástico é o mais comum, logo esses materiais têm sua viscosidade aparente diminuída gradualmente, à medida que aumenta a tensão de cisalhamento [147].

4.2 Caracterização estrutural do monolito variando as porcentagens de ME

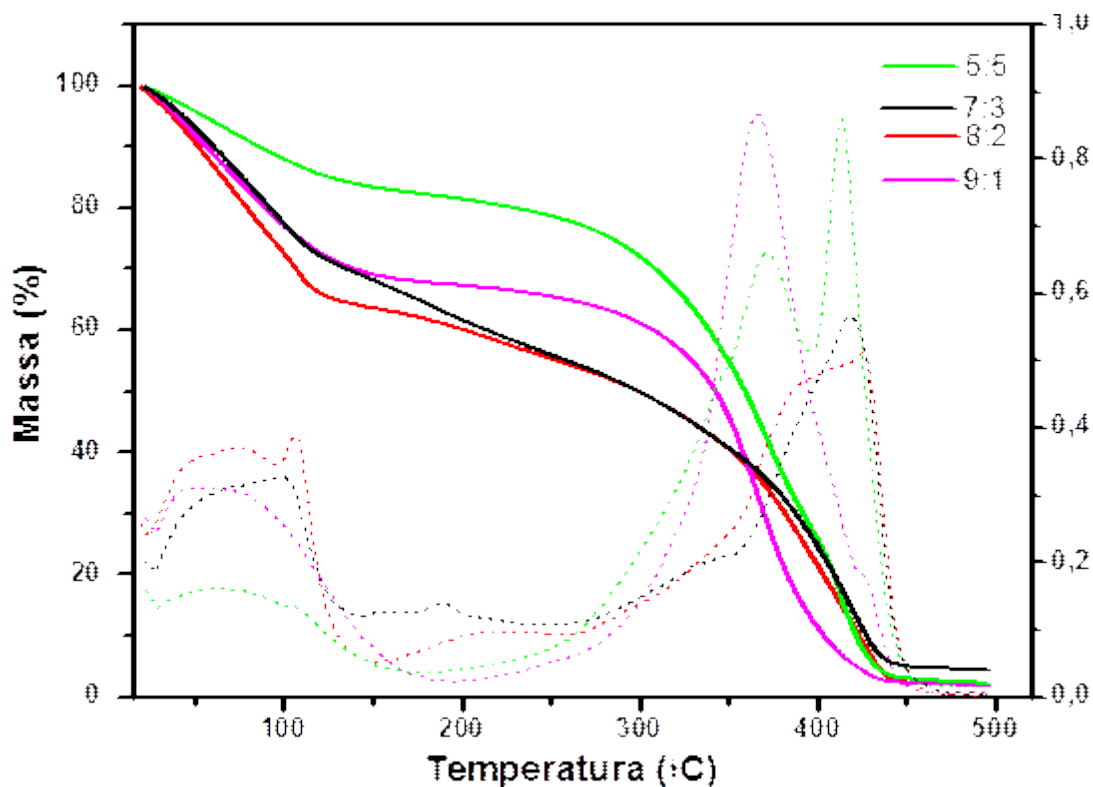
A análise termogravimétrica é um método simples empregado para estudar a decomposição e a estabilidade térmica dos polímeros. Esta técnica permite conhecer as alterações que o aquecimento pode provocar na massa das substâncias, possibilitando estabelecer a faixa de temperatura ideal em que começam a se decompor, acompanhar o andamento da desidratação e de reações de oxidação, combustão, decomposição, etc [148] .

A estabilidade térmica dos monolitos foi determinada por medidas de TG. A Figura 18 apresenta a TG e a DTG dos monolitos obtidos a partir das diversas composições de MEs incorporadas em hidrogéis, ou seja, a amostra 5: 5 significa que a ME com 50% de fase aquosa e 50% de fase oleosa foi adicionada no hidrogel, seguida da ME 7:3 no qual 70% da fase aquosa e 30% da fase oleosa foi adicionada no hidrogel e assim, as demais ME seguiram o mesmo procedimento.

Na figura podemos observar 3 principais eventos de perda de massa. Um primeiro evento em aproximadamente 100 °C atribuído a perdas de solvente. A amostra 5:5 apresenta uma menor perda devido a menor quantidade de água existente na sua composição.

A segunda e terceira etapas em aproximadamente 365 °C e 415 °C, respectivamente, são atribuídos a quebras na cadeia polimérica (parte orgânica). A partir da DTG das amostras, é possível observar que as intensidades dos picos correspondentes aos eventos variam de acordo com a composição das amostras. Porém, a segunda etapa (única) é muito mais evidente na mostra 9:1 (ME composta por 90% de fase aquosa e 10% de fase oleosa incorporada no hidrogel) e diminui conforme aumenta a quantidade de óleo. Em contrapartida, o terceiro evento aumenta com o aumento do óleo. Estes resultados mostram que o aumento do óleo altera a estrutura polimérica aumentando a estabilidade térmica do sistema.

Figura 18: Curvas TG/DTG dos monolitos obtidos a partir da incorporação de diversas composições de ME incorporados em PHEMA.



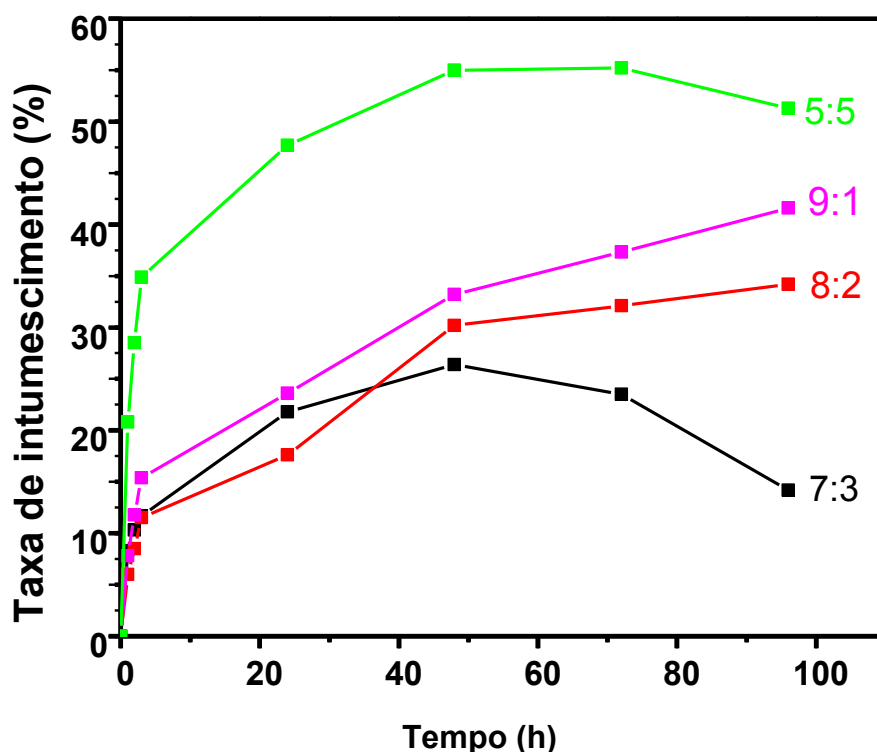
Para avaliar capacidade do material de absorver água e possibilitar a liberação do OESA, testes de intumescimento foram realizados com as amostras contendo diferentes tipos de ME incorporadas em hidrogéis como está representado na Figura 19.

O estudo confirmou a influência dos componentes na capacidade de absorção do material, ou seja, a amostra 5:5 constituída pela ME 5:5 e o hidrogel, foi a amostra que melhor apresentou resultados de intumescimento, comparada com a amostra contendo a ME 9:1, que resultou em pequeno grau de absorção de água. Concluímos que as amostras que apresentaram maior fase oleosa possuíram uma taxa de intumescimento elevada.

Estes resultados são considerados favoráveis, uma vez que a amostra 5:5 (com maior quantidade de óleo) apresenta também a maior capacidade de intumescimento, o que a transforma em um potencial sistema de liberação do

OESA. Desta forma, esta amostra foi utilizada na preparação dos monolitos utilizados no ensaio larvícida.

Figura 19: Taxa de intumescimento em função do tempo para os monolitos preparados a partir da incorporação de ME com diversas composições em PHEMA.



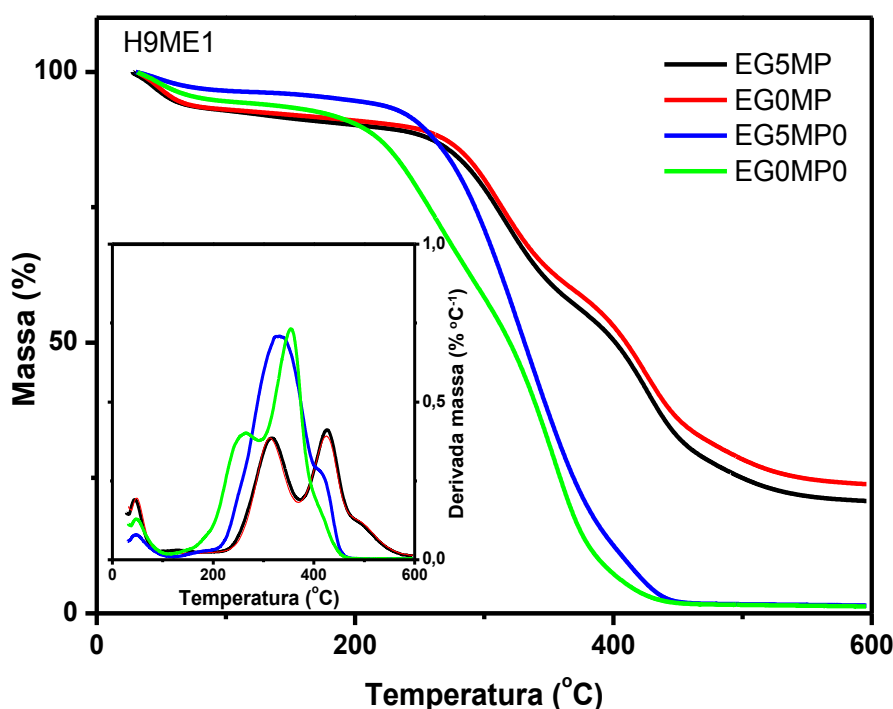
4.3 Caracterização estrutural dos monolitos com a ME 5:5

A Figura 20 apresenta as curvas de TG e DTG dos monolitos H9ME1 preparados com 10% de ME incorporados ao HEMA responsável pelos 90% na sua composição, com e sem agente reticulante (EDGMA) e com e sem inserção da fase inorgânica (MPTS). A partir da figura nota-se uma primeira perda de massa até 100°C para todas as amostras referentes à presença de água superficial. Para os monolitos preparados sem a presença do MPTS e sem a do EDGMA, pode ser observado a presença de duas etapas de perda de massa, sendo a primeira em torno 267 °C, referente a degradação do polímero e eliminação dos grupos CH₃ não hidrolisados e a segunda em torno de 358 °C relacionado com a quebra de ligações da cadeia principal do polímero (p-HEMA). Na presença de EDGMA pode ser observada uma perda significativa

de massa torno de 342 °C referente aos grupos éster presente na estrutura do polímero e a segunda e última degradação ocorre em torno 419 °C atribuídas a degradação total do polímero. Estes resultados sugerem que a maior reticulação na estrutura promovida pelo EGDMA melhorou a estabilidade térmica do sistema [150].

Para as amostras contendo MPTS com e sem EDGMA, as curvas praticamente se sobrepõem indicando que o agente reticulante não exerce influência sobre a estabilidade térmica destas amostras. Podem ser observadas a presença de duas etapas de perda de massa, sendo a primeira etapa ocorrendo em torno de 323 °C, atribuída a decomposição da cadeia principal de p-HEMA, e a outra superior a 400 °C, atribuída à desidroxilação de grupos silanóis presentes na rede de SiO₂. Este resultado mais a porcentagem de resíduo, em torno de 25%, das amostras com MPTS sugerem que a incorporação das partículas inorgânicas na sua estrutura tornou a cadeia polimérica mais rígida, resultando em um material com melhor estabilidade térmica [151].

Figura 20: Curvas de TG e DTG da amostra com e sem a fase inorgânica, variando o agente reticulante. **Fonte:** O autor, 2017.



A liberação do princípio ativo está diretamente relacionada com o grau de intumescimento de polímeros hidrofílicos, ou seja, a técnica pode ser descrito como a quantidade de solvente absorvida pelo hidrogel, no qual sua propriedade está relacionada com a estrutura da rede formada, assim à densidade de reticulação do polímero influencia na cinética de liberação em sistemas matriciais. Entretanto, o potencial de liberação de ativos dos sistemas a base de hidrógeis como o PHEMA está associado a sua capacidade de intumescimento, o que torna este tipo de estudo fundamental para avaliar se os monolitos preparados são promissores para serem aplicados como sistemas de liberação biolarvicidas. Isto é, o processo de relaxamento e rearranjo estrutural que ocorre durante o intumescimento pode influenciar o mecanismo de liberação [152]. A Figura 21 mostra as curvas obtidas a partir dos resultados do ensaio de intumescimento para as amostras com e sem a fase inorgânica e com e sem a presença de EDGMA.

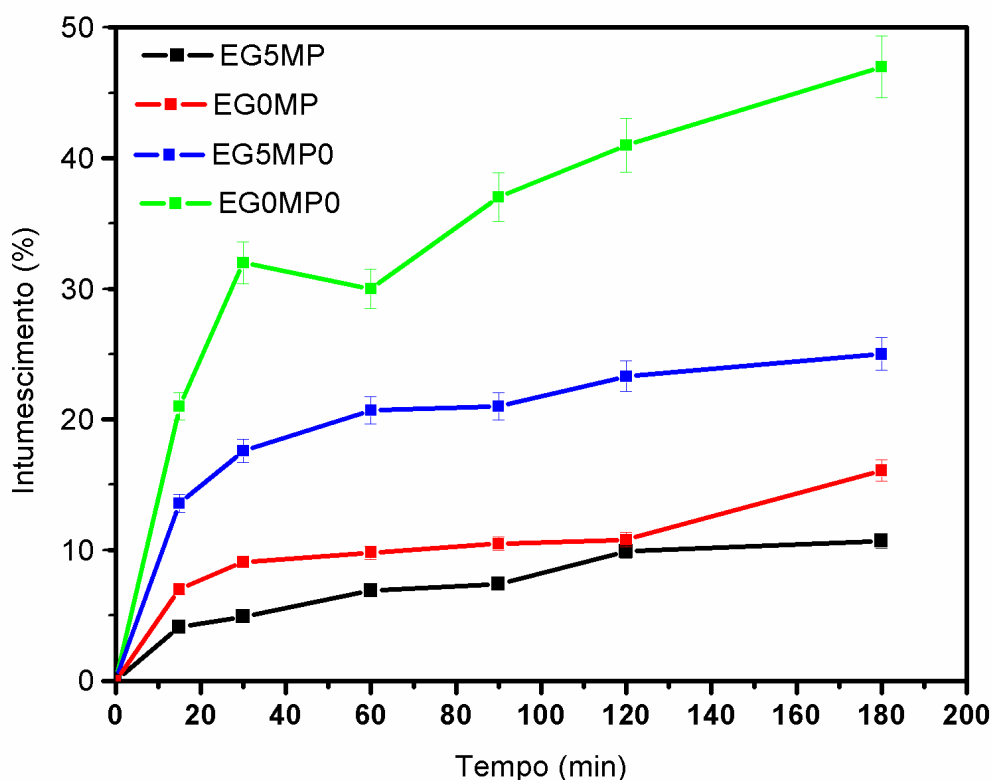
Como pode ser observado, as amostras contendo MPTS apresentam menor grau de intumescimento, principalmente a preparada com EDGMA, pois a variação de absorção de água foi menor. Por outro lado, a amostra preparada sem MPTS e sem o agente reticulante apresentou um maior grau de intumescimento.

A diminuição do intumescimento com a presença de agente reticulante, ocorre devido à este promover a formação de uma estrutura tridimensional mais compacta e rígida ocasionada pelo aumento do número de ligações cruzadas. Com o aumento da densidade de reticulação, o sistema torna-se menos susceptível à absorção de água [153]. A formação de cadeias de sílica (com a adição de MPTS) promove ainda uma maior compactação da matriz polimérica, o que acarreta na perda da elasticidade da rede polimérica tridimensional e dos espaços vazios que poderiam ser ocupados pela água [154].

Desta forma, a ausência de MPTS e do agente reticulante contribui para o aumento do grau de intumescimento, pois à medida que a água penetra no hidrogel, ocupa os espaços entre as cadeias poliméricas, e estas se estendem, buscando uma nova configuração, uma vez que a presença da água no

sistema requer a expansão e a reordenação das cadeias [155]. Como exemplo, Leimann 2009, estudou o intumescimento de microcápsulas de hidrogel contendo o óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) em função do tempo e observou que o aumento das reticulações do sistema, tendia a uma diminuição do intumescimento do hidrogel. Entretanto, os sistemas que apresentaram baixo grau de intumescimento podem ser úteis nos casos em que se necessita de sistemas com liberação mais prolongada.

Figura 21: Gráfico de intumescimento das amostras com e sem a fase inorgânica, variando o agente reticulante. **Fonte:** O autor, 2017.

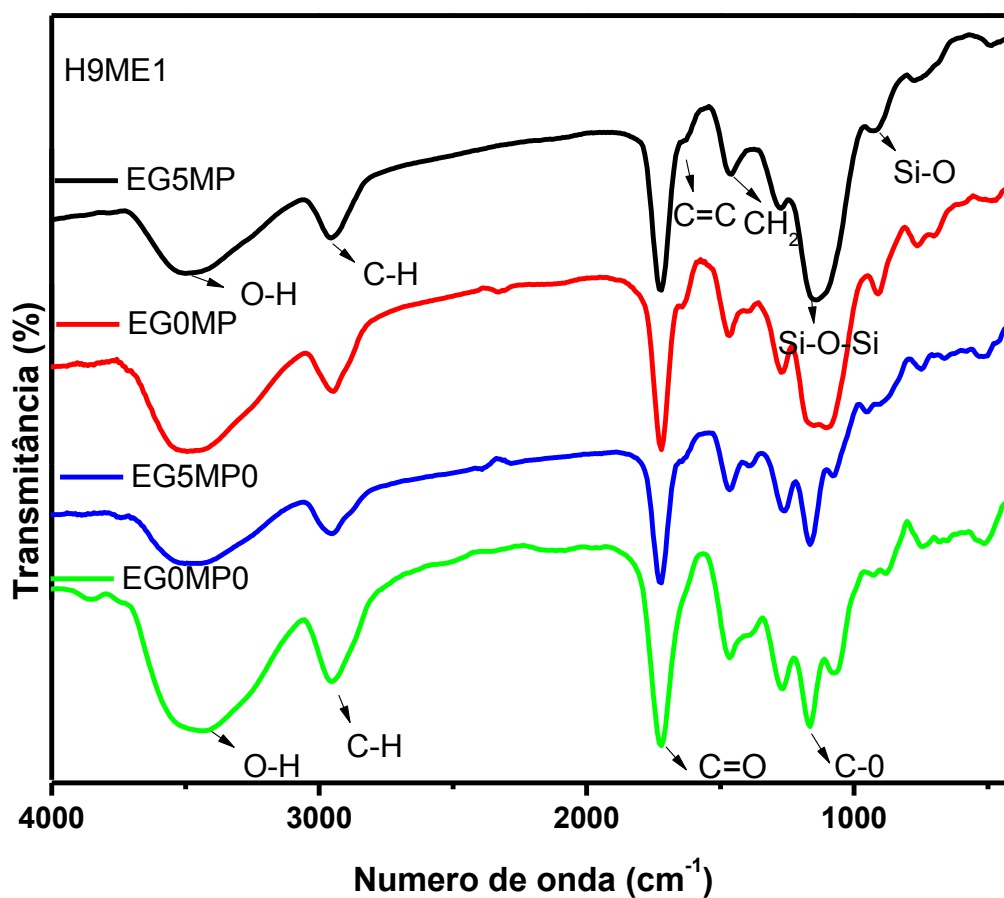


A Figura 22 mostra os espectros de FTIR dos monolitos (na forma de pó) preparados com ME incorporados ao HEMA com e sem agente reticulante (EDGMA) e com e sem inserção da fase inorgânica (MPTS). Como pode ser observado os espectros apresentam em geral, bandas em 3479 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação -OH , e em 2952 cm^{-1} referente à banda de estiramento C-H do grupo CH_3 . A banda de absorção que aparece em aproximadamente 1726 cm^{-1} é atribuída aos grupos $\text{C}=\text{O}$ dos grupos

ramificados de p-HEMA. As bandas em 1627 e 1465 cm^{-1} referem-se ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ e $\text{CH}_2=$ do grupo vinil, respectivamente. As bandas de absorção em 1269 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento da ligação $\text{C}-\text{O}$ de éster [150,151].

Para os monolitos obtidos com MPTS, a presença de bandas na região de 1200 a 800 cm^{-1} , especificamente em 1151 cm^{-1} e 904 cm^{-1} , atribuídas as vibrações das ligações $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ e $\text{Si}-\text{O}$, respectivamente, indicam a formação de uma cadeia inorgânica siliciosa [149,153]. Observa-se, ainda, nenhuma modificação significativa dos espectros com e sem EDGMA, sugerindo que este agente reticulante não influencia na estrutura do material e confirma novamente os resultados obtidos por TG.

Figura 22: Espectros de FTIR das amostras com e sem a fase inorgânica, variando o agente reticulante. **Fonte:** O autor, 2017.



4.4 Avaliação da Concentração Letal Média (CL₅₀) do sistema microemulsionado selecionado e do monolito frente às larvas do *Ae. aegypti*

A Tabela 6 apresenta os resultados da avaliação do índice de mortalidade das larvas do *Ae. Aegypti* para as MEs preparadas sem a incorporação no hidrogel (Figura 23). A partir dos resultados obtidos observa-se que o grau de mortalidade das larvas inicia-se em 15 mg L⁻¹, chegando a um total de mortalidade maior que 50% em aproximadamente 25 mg L⁻¹. Logo, a partir de 50 mg L⁻¹ foi registrado um índice de mortalidade de 100 %, em um período de 24 horas. Segundo Costa *et al*, (2005), os resultados indicaram que as amostras dos óleos essenciais de *S. aromaticum* em concentrações 1.000, 500 e 250 mg L⁻¹ verificou-se a atividade larvicida após 10 minutos de ensaio e em 100 mg L⁻¹ após 30 minutos. Assim, através dos resultados apresentados indica que quanto maior a concentração do OESA, mais rápido é a atividade larvicida frente as larvas do *Ae. Aegypti*.

Figura 23: Fotografia do experimento da avaliação da concentração letal média (CL₅₀) da ME 5:5 frente às larvas de *Ae. aegypti*. **Fonte:** O autor, 2017.



Foi realizada uma análise estatística a partir da determinação da concentração letal capaz de reduzir 50% das larvas (CL₅₀) e então calculado o

intervalo de confiança. No sistema trabalhado (ME 5:5), foi possível observar uma CL_{50} 23,52 (22,33-24,73), um valor menor quando comparado com o relatado por Santos (2014), que obteve uma CL_{50} de 40,74 mg L⁻¹ para o OESA.

O valor de CL_{50} obtido para a ME 5:5 pode ser justificado devido à formação de sistema em escala nanométrica, com alta capacidade de compartimentalização de substâncias lipofílicas como o OESA e potencial de liberação. Desta forma, o conjunto de resultados apresentados comprova que o sistema estudado apresenta uma boa capacidade de liberação transformando-o em um potencial larvicida natural como alternativa aos já existentes [157].

Tabela 6: Mortalidade das larvas do *Ae. Aegypti* em triplicata após 24hs de exposição a várias concentrações da ME 5:5

Concentração	Larvas mortas			Mortalidade
(mg L ⁻¹)	(unidade)			(%)
5	0	0	0	0
10	0	0	0	0
15	1	1	3	8,3
20	3	7	6	26,6
25	14	12	11	61,6
30	13	17	14	73,3
40	20	20	19	98,3
50	20	20	20	100
60	20	20	20	100

A incorporação da ME no hidrogel além de preservar a sua estrutura no meio aquoso, pode também possibilitar a liberação prolongada. A Tabela 7 apresenta os resultados da avaliação do índice de mortalidade das larvas do *Ae. Aegypti* em 24 h e 48 h para os monolitos preparados em função da presença ou não de MPTS e EDGMA (Figura 24). Foram avaliados como controle, os monolitos preparados a partir da combinação de PHEMA puro com o EDGMA e MPTS para comparação.

Figura 24: Fotografia do experimento da avaliação larvicida do monolito frente às larvas de *Ae. Aegypti*. **Fonte:** O autor, 2017.



A partir dos resultados obtidos da Tabela 7, observa-se que com 24 h o grau de mortalidade das larvas dos monolitos sem a fase inorgânica e sem o EGDMA apresentaram melhores resultados, em torno de 66,6 %. No entanto, ao adicionar o agente reticulante houve uma diminuição do índice para 41,6 % que é reduzido ainda mais quando o MPTS é adicionado (em torno de 18,3%). Estes resultados sugerem que a presença de MPTS e EDGMA acarretam um maior aprisionamento do óleo, diminuindo a taxa de mortalidade das larvas do mosquito. Isto é devido a reticulação do sistema, promovendo uma maior rigidez da estrutura, conforme discutido anteriormente [158].

Tabela 7: Mortalidade das larvas do *Ae. Aegypti* em triplicata após 24 e 48hs respectivamente de exposição aos monolitos.

Amostra	Quantidades de larvas mortas			Mortalidade (%)	
	(unidade)			(24h)	(48h)
B1	0	0	0	0,0	6,6
B2	0	0	0	0,0	8,3
B3	0	0	0	0,0	13,3
B4	0	0	0	0,0	21,6
ME	15	15	14	73,3	76,6
EG0MP0	14	11	15	66,6	81,6
EG5MP0	8	9	8	41,6	70,0
EG0MP	2	2	3	11,6	40,0
EG5MP	3	6	2	18,3	30,0

(B1) PHEMA, (B2) PHEMA + EGDMA, (B3) PHEMA + MPTS e (B4) PHEMA + EGDMA + MPTS

Para os ensaios com 48 horas, observa-se um aumento da mortalidade das larvas. A amostra sem MPTS e sem agente reticulante que apresentaram maior índice de mortalidade, por exemplo, obtiveram um aumento de 66,6 para 81,6%. Uma mesma tendência é verificada para as outras composições. Estes resultados indicam que os monolitos apresentam uma possível ação larvívica prolongada. Estudos futuros serão realizados para otimizar esta ação. Vale ressaltar ainda que os resultados das amostras controle (B1, B2, B3, e B4), não apresentaram mortalidade frente às larvas do mosquito nas primeiras 24 h.

5 Conclusão

O óleo essencial (OESA) de botões florais de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) foi extraído e apresentou como componente majoritário o eugenol, em torno de 60%. Apresentou uma temperatura de degradação térmica que iniciou em torno de 55 °C com máxima degradação em 125 °C.

A incorporação de uma fase inorgânica a partir do MPTS e do agente reticulante EDGMA influenciou na estrutura final dos hidrogéis favorecendo a formação de hidrogéis mais rígidos e com cadeia polimérica reticulada, aumentando a estabilidade térmica, porém diminuindo a capacidade de captação de água (intumescimento).

A composição dos hidrogéis influenciou nos índices de mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* nas primeiras 24 hs, variando de 11,6 a 66,6 % dependendo da combinação presente ou não de MPTS e EDGMA na amostra. Os hidrogéis apresentaram ação larvicida prolongada até 48 hs, variando de 30 a 81,6 % o índice de mortalidade das larvas. Desta forma, o sistema se mostrou promissor apresentando ação larvicida prolongada.

6 Produção e perspectiva

Perspectiva

- Quantificação de eugenol nos monolitos;
- Realizar a o ensaio de liberação dos monolitos;
- Estudo do efeito residual.

Apresentação em Eventos Científicos:

Rezende, B. M.M .; Oliveira, J.C.; Nunes, R. S.; Sarmento, V. H. V. Structural characterization of Microemulsion systems biolarvicides base dispersed in Hydrogels. II Congresso Regional da Sociedade Brasileira de Biofísica. Aracaju-SE, 2106.

Rezende, B. M.M.; Oliveira, J.C.; Nunes, R. S.; Sarmento, V. H. V. Caracterização estrutural de Sistemas Biolarvicidas à base de microemulsões dispersas em hidrogéis para o controle do mosquito *Aedes aegypti*. *Encontro Estadual de Química (ENESQUIM). Itabaiana-SE, 2016.*

Rezende, B. M.M.; Nunes, R. S.; Sarmento, V. H. V. Desenvolvimento e caracterização de hidrogéis à base de microemulsão de Óleo Essencial *Syzygium Aromaticum* com ação larvicida contra o mosquito *Aedes Aegypti*. *Encontro Estadual de Química (ENESQUIM). Itabaiana-SE, 2017.*

7 Referências

- [1] Nawas, Z. Y. ; Tong, Y. ; Kollipara, R.; Peranteau, A. J. ; Woc-Colburn, L.; Yan, A. C.; Lupi, O.; Tying, S. K. Emerging infectious diseases with cutaneous manifestations. *J AM ACAD DERMATOL*. **2016**, 75, 1-16.
- [2] Bhatt, S.; Peter, W. G.; Oliver, J. B.; Jan, P. M.; Andrew, W. F.; Catherine, L. M.; John, M. D.; John, S. B.; Anne, G. H.; Osman, S.; Monica F. M.; Dylan, B. G.; Thomas, J. G. R.; William W.; Cameron, P. S.; Thomas, W. S.; Jeremy, J. F.; Simon, I. H. The global distribution and burden of dengue. *Macmillan Publishers Limited*. **2013**, 496, 504-507.
- [3] Taui, P.L. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, **2001**, 99-102
- [4] Braga, I. A; Lima, J. B. P.; Soares, S.S.; Valle, D. *Aedes aegypti* Resistance to Temephos during 2001 in Several Municipalities in the States of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. **2004**, 99, 199-203.
- [5] Guzmán, M. G.; Peláez, O.; Kourí, G.; Quintana, I.; Vázquez, S.; Pentón, M.; Ávila, L.C. Caracterización final y lecciones de la epidemia de dengue 3 en Cuba, 2001–2002. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*. **2006**, 19, 282-289.
- [6] Luna, J. E. D. ; Martins, M. F.; Anjos, A. F.; Kuwabara, E. F.; Navarro-Silva, M. A. Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides, Brazil. *Rev. Saúde Pública*. **2004**, 38, 1-2
- [7] Borges, R.A.; Arruda, W.; Oliveira, E.S.F.; Cavasin, G.M.; Silval, H.H.G.; Silva, I.G. Mecanismos da ação larvívica do diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* evidenciados pelas alterações ultraestruturais. *Revista de Patologia Tropical*. **2012**, 41, 222-232.
- [8] Leite, A. M. ; Lima, E. O. ; Souza, E. L. ; Diniz, M. F. F. M. ; Leite, S. P. ; Aline L. Xavier, Medeiros, I. A. Preliminary study of the molluscicidal and

larvicidal properties of some essential oils and phytochemicals from medicinal plants. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2009**, 19, 842-846.

[9] Bakkali, F.; Averbeck, S.; Adverbeck, D.; Idaoma, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. **2008**, 46, 446–475

[10] Pereira, A.I.S.; Pereira, A.G.S.; Lopes Sobrinho, O.P.; Cantanhede, E.K.P.; Siqueira, L.F.S. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. *Educ. quím.* **2014**, 25, 446–449.

[11] Affonso, R.S.; Rennó, M.N.; Slana, G.B.C.A.; Franca, T.C.C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*. **2012**, 4, 146-161.

[12] Oliveira, M.L.; Melo, G.L.; Niella, A.R.R.; Silva, V.R. Black root rot caused by *Rosellinia pepo*, a new disease of the clove tree in Brazil. *Tropical Plant pathology*. **2008**, 33, 90-95.

[13] Ferreira, S.G.; Conceição, V.S.; Gouveia, N.S.; Santos, G.S.; Santos, R.L.C.; Lira, A.A.M.; Cavalcanti, S.C.H.; Sarmento, V.H.V; Nunes, R.S. An environmentally safe larvicide against *Aedes aegypti* based on in situ gelling nanostructured surfactant systems containing an essential oil. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2015**, 456, 190–196.

[14] Damasceno, B.P.G.L.; Silva, J.A. ; Oliveira, E.E.; Silveira, W.L.L.; Araújo, I.B. ; Oliveira, A.G. ; Egito, E.S.T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. **2011**, 32, 9-18.

[15] Correa, M. A.; Scarpa, M. V.; Franzini, M. C.; Oliveira, A.G. On the incorporation of the non-steroidal anti-inflammatory naproxen into cationic O/W microemulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **2005**, 43, 108-114.

[16] You, x.; Tuo, J.; Song, W.; Zeng, Y.; Hu, H. Optimizing surfactant content to improve oral bioavailability of ibuprofen in microemulsions: Just enough or

more than enough? *International Journal of Pharmaceutics*. **2014**, 471, 276–284.

[17] Rossi, C.G.F.T.; Dantas, T.N.C.; Neto, A.A.D.; Maciel, M.A.M. Tensoativos: Uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. *Revista Universidade Rural. Série Ciências Exatas e da Terra, Seropédica*. **2006**, 25, 73-85.

[18] Formariz, T. P.; Urban, M.C.C.; Júnior, A.A.S.; Gremião, M.P.D.; Oliveira, A.G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **2005**, 41, 301- 313.

[19] Aouada, F. A.; Muni, E. C.; Vaz, C. M. P.; Mattoso, L. H. C. Cocas estruturais e hidrofílicas de hidrogéis de Poliacrilamida e Metilcelulose. *Quim. Nova*. **2009**, 32, 6,1482-1490.

[20] Oun, A. A.; Rhim, J. W. Carrageenan-based hydrogels and films: Effect of ZnO and CuO nanoparticles on the physical, mechanical, and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*. **2017**, 67, 45-53.

[21] Malmonge, S. M.; Zavaglia, C. A. C. Hidrogéis de poliHEMA para reparo de defeitos da cartilagem articular. 1 - síntese e caracterização mecânica. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. **1997**, 22-29.

[22] Bisset, J.A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. **2002**, 54, 202-219.

[23] Maneerat,S.; Daudé, E. A spatial agent-based simulation model of the dengue vector *Aedes aegypti* to explore its population dynamics in urban áreas. *Ecological Modelling*. **2016**, 333 ,66–78.

[24] Fernández-Salas,I.;Danis-Lozano, R.; Casas-Martínez,M.; Ulloa, A.; Bond, J.G.; Marina, C.F.; Lopez-Ordóñez,T.; Elizondo-Quiroga, A.; Torres-Monzón,J.A; Díaz-González, E.E. Historical inability to control *Aedes aegypti* as a main contributor of fast dispersal of chikungunya outbreaks in Latin America. *Antiviral Research*. **2015**, 1-46.

- [25] Grecha, M. G.; Sartor, P. D.; Almirón, W. R.; Luduena-Almeida, F. F. Effect of temperature on life history traits during immature development of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Córdoba city, Argentina. *Acta Tropica*. **2015**, 16
- [26] Braga, I.A; Valle, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. **2007**, 16, 113-118.
- [27] Teixeira, M. G.; Barreto, M.L.; Guerra, M. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. Informe Epidemiológico do SUS. **1999**, 8, 5-33.
- [28] Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filippis, A.M.B., Failloux, A.B. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. **2004**, 98, 43-54.
- [29] Tauil, P.L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad Saúde Pública*. **2002**, 18, 867-71.
- [30] Tilak, R.; Gupta, V.; Suryam, V.; Yadav, J.D.; Gupta, K.K.D. A Laboratory Investigation into Oviposition Responses of *Aedes aegypti* to Some Common Household Substances and Water from Conspecific Larvae. **2004**, 227-229.
- [31] Varejão, J. B. M.; Santos, C.B.; Rezende, H.R.; Bevilacqua, L.C.; Falqueto, A. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na cidade de Vitória, ES. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **2005**, 38, 238-240.
- [32] FUNASA - Fundação Nacional de Saúde. Dengue – Instruções para pessoal de combate ao vetor: **Manual de normas técnicas**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.
- [33] Tua saúde. Saiba como é o Ciclo de vida do *Aedes Aegypti*. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/> Acesso em: 27 de Nov. 2016.
- [34] World Health Organization (WHO). Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition. Geneva: WHO Press, 2009.

- [35] Silva, O.S.; Prophiro, J.S.; Rossi, J.C.N.; Kanis, L.A.; Romão, P.R.T.; Blazius, R.D. Larvicidal effect of andiroba oil *Carapa guianensis* (Meliaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of the American Mosquito Control Association*. **2006**, 22, 699-701.
- [36] Costa, A. M. B. Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck pelo método de coacervação simples para o controle larvica do *Aedes aegypti*. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovã- SE. **2010**.
- [37] INFO-E. Empresa do Rio desenvolve bioinseticida contra o mosquito da dengue. Info-e ano VII, n.164, 2 de abril de 2008. Disponível em: <http://www.anprotec.org.br/infoe/acontece_veja_mais.php?var=21>. Acessado em: 01 Dez. 2016.
- [38] Rust, R.S. Human arboviral encephalitis. *Seminars in Pediatric Neurology*. **2012**, 19, 130-151.
- [39] Vasconcelos, P. F.; Travassos,da-Rosa, A. P. A.; Pinheiro, , F. P.; Travassos,da-Rosa, J. F. S. Arboviroses. In: (Ed.). VERONESI: *Tratado de Infectologia*. **2005**, 289-302.
- [40] Figueredo, L.T.M. Arboviroses emergentes no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **2007**, 40, 224-229.
- [41] Vasconcelos, P.F.C.; Travassos,da-Rosa, A. P. A.; Dégallier, N.; Travassos,da-Rosa, J.F.S.; Pinheiro, F.P. Clinical and ecoepidemiological situation of human arboviruses in Brazilian Amazonia. *Ciência e Cultura (Journal of the Brazilian association for the Advancement of Science)*, **1992**, 44, 117-124.
- [42] Anthony S. Fauci, Morens, D. M. Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat. *The New England Journal of Medicine*. Jan **2016**, 1-3.

- [43] Oliveira, R. L. , Vazeille , M. , Filippis, A. M. B. , Failloux, A. B. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever. *Bull World Health Organ.* **2016**, 94, 766–771.
- [44] Jorge, T.R. ; Mosimanna, A.L.P. ; Noronha, L. ; Maron, A. ; Santos, C. N. ; Isolation and characterization of a Brazilian strain of Yellow fever virus from an epizootic outbreak in 2009. *Acta Tropica.* **2016**, 1-7.
- [45] Mota, L.M. ; Oliveira , A.C.V. ; Lima, R.A.C. ; 4, Santos-Neto, L.L. ; Tauil, P.L. Vacinação contra febre amarela em pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas, em uso de imunossupressores. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* **2009**, 42, 23-27
- [46] Tranquillin, M. V.; Lehmkuhl, R. C.; Maron, A.; Silva, L. R.; Ziliotto, L.; Seki, M.C.; Salomon, G. R.; Carrasco, A.O. T. . First report of yellow fever virus in non-human primates in the State of Paraná, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* **2013**, 46, 522-524.
- [47] Tauil, P.L. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 555-558, jun. 2010.
- [48] Vasconcelos, P.F.; Travasso-da-Rosa, A.P.A.; Pinheiro, F.P.; Travasso-da-Rosa, J.F.S. Arboviroses. In: (Ed.). VERONESI: *Tratado de Infectologia.* **2005**, 289-302.
- [49] Traiber, C. ; Coelho-Amaral, P. ; Ritter, V.R.F. ; Winge, A. Infant meningoencephalitis caused by yellow fever vaccine virus transmitted via breastmilk. *Jornal de Pediatria.* **2011**, 87, 269-272.
- [50] Saraiva, M.C.G.; Amorim, R.D.S.; Moura, M.A.S.; Santos, E.C.S.; Sampaio, L.S.; Barbosa, M.G.V. Historical analysis of the records of sylvan yellow fever in the State of Amazonas, Brazil, from 1996 to 2009. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* **2013**, 46, 223-226.
- [51] Fonseca, B.F.; Figueredo, L.T.M. Febre Amarela In: (Ed.). VERONESI: *Tratado de Infectologia.* **1996**, 251-257.

- [52] Suzano, C.E.S. ; Amaral, E. ; Sato, H.K.; Papaiordanou, P.M. The effects of yellow fever immunization (17DD) inadvertently used in early pregnancy during a mass campaign in Brazil. *Vaccine.*, **2006**, *24*, 1421–1426.
- [53] Araújo, T.P. ; Rodrigues, S.G. ; Costa, M.I.W.W. ; Vasconcelos, P.F.C. ; Amélia P.A. Travassos da Rosa, A.P.A.T. Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **2002**, *35*, 579-584.
- [54] Lima, J.T.F. Risco de urbanização da febre amarela no Brasil. *Caderno da saúde*. **1985**, *1*, 377-384.
- [55] Brasil. Agência Fiocruz de notícias. Febre Amarela. Disponível em: <<http://agencia.fiocruz.br/febre-amarela>. Acessado em 25 de julho de 2017.
- [56] Mamani, E. Nuevo serotipo 5 del virus dengue: necesidad de fortalecer la vigilancia molecular em Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. **2014**, *31*, 171-3.
- [57] Shi,Y.; Li, S.; Li, X.; Zheng,K.; Yuan, S.; Huang, J. Epidemiological and molecular characterization of dengue viroses imported into Guangzhou during 2009–2013. Shi *et al. SpringerPlus*. **2016**, *5*,1-8..
- [58] Chen, H. ; Zheng, X. ; Wang, R. ; Gao, N. ; Sheng, Z. ; Dongying Fan, D.; Feng, K. ; Liao, X. ; Na, J. Immunization with electroporation enhances the protective effect of a DNA vaccine candidate expressing prME antigen against dengue vírus sero type infection. *Clinical Immunology*. **2016**, *171* ,41–49.
- [59] Who - World Health Organization. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. *WHO Fact Sheet*. 2008, Geneva.
- [60] Junior, M. M. G. Time-spatial model on the dynamics of the proliferation of *Aedes aegypti*. *Commun Nonlinear Sci Numer Simulat*. **2017**, *44*, 130–143.
- [61] Normile, D. Surprising New Dengue Virus Throws A Spanner in Disease Control Efforts. *Science*. **2013** , *342*, 415 .

- [62] Alm, E.; Lesko, B.; Lindegren, G.; Ahlm, C.; Söderholm, S.; Falk, K. I. ; Lagerqvist, N. Universal Single-Probe RT-PCR Assay for Diagnosis of Dengue Virus Infections. *Neglected Tropical Diseases*. **2014**, 8, 1-11.
- [63] Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica. **2016**, 5.
- [64] Rothman, A.L.; Ennis, F. A. Dengue vaccine: the need, the challenges and progress. *Journal of Infectious Diseases Advance Access published February*. **2016**, 1-7.
- [65] Mason, P.J.; Haddow, A. A. J. Na epidemic of vírus disease in Southern province, Tanganyika territory, in 1952-53. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* . 1957,51, 238-240.
- [66] Madariaga, M. ; Ticonab, E. ; Resurrecionc, C. Chikungunya: bending over the Americas and the rest of the world. The *Brazilian Journal of INFECTIOUS DISEASES*. **2015**, 1-8.
- [67] Sanchés, Z.M.T.; Pertuz, S.A.B.; Serrano, R.M. Chikungunya: aspectos generales de una enfermedad emergente en Colombia. *Biociencias* . **2015**, 10, 75 – 88.
- [68] Honório, N. A.; Câmara, D.C.P.; Calvet,G.A.; Brasil, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. **2015** , 31, 906-908.
- [69] Nawas, Z, Y.; Tong, Y.; Kollipara, R.; Peranteau, A. J. Emerging infectious diseases with cutaneous manifestations: Viral and bacterial infections. *Continuing Medical Education* . **2016**, 75, 1-16.
- [70] Turriago, R. P. Zika. A pandemic in progress and an epidemiological challenge. **2016**, 44, 86–88.

- [71] Nunes, M. R. T.; Faria, N. R.; Vasconcelos, J. M.; Golding, N.; Kraemer, M. UG. ; Oliveira, L. F.; Azevedo, S. P. S.; Silva, D. E. A.; Silva, E. V. P.; Silva, S. P.; Carvalho, V. L.; Coelho, G. E. ; Cruz, A. C. R.; Rodrigues, S. G.; Junior Vianez, J. L. S. G.; Nunes, B. T. D. ; Cardoso, J. F.; Tesh, R. B.; Hay, S. I. ; Pybus, O. G.; Vasconcelos, F. C. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Medicine*, **2015**, 13-102.
- [72] Lanciotti, R.S.; Kosoy, O.L.; Laven, J.J.; Velez,J.O.; Lambert, A.J.; Johnson, A.J. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases journal*. **2008**, 14,1232 - 1239.
- [73] Zanluca, C.; Melo, V.C.A.; Mosimann, A.L.P.; Santos, G.I.V.; Santos, C.N.D.; Luz, K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. **2015**, 110, 569-72.
- [74] Enfissi A, Codrington J, Roosblad J, Kazanji M, Rousset D. *Zikavirus genome from the Americas*. *Lancet*. **2016**, 387, 227-8.
- [75] Kindhauser, M.K.; Allen, T.; Frank, V.; Santhana, R. S.; Dye, C. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. *Bulletin of the World Health Organization. Type: Research in emergencies*. **2016**, 1- 18.
- [76] Oehler, E.; Watrin, L.; Larre, P.; Lastère, S.; Valour, F.; Baudouin, L. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome –case report, French Polynesia, December 2013. *Eurosurveillance*. **2014**, 19, 7–9.
- [77] Besnard, M.; Lástère, S.; Terssier, A.; Lormeau, V.M.C.; Musso,D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Eurosurveill*. **2014**, 19, 1-4.
- [78] Nunes, M. L.; Carlini, C. R.; Marinowic, D.; Neto, F. K.; Fiori, H. H.; Scott, M. C.; Zanella, P. L. A.; Soder, R. B.; Costa, J. C. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. *J Pediatr*. **2016**, 92, 230-240.

- [79] Braga, I.A. *Aedes aegypti*: History of Control in Brazil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. **2007**, 16, 113 – 118.
- [80] Kubota, R.L. ; Brito, M. ; a e Voltolini, J.C. Método de varredura para exame de criadouros de vetores de dengue e febre amarela urbana. *Rev Saúde Pública*. **2003**, 37, 263-265.
- [81] Ministerio da Saude (MS). Brasil. Secretaria de Vigilancia em Saude. Departamento de Vigilancia Epidemiologica. Dengue Casos da doenca no Brasil. Brasília: Ministerio da Saude, 2011. Disponível em <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?idarea=1525>> Acesso 06 Dez. 2016..
- [82] Zara, A.L.S.A. ; Santos, S.M. ; Fernandes-Oliveira, E.S. ; Carvalho, R.G.; Coelho, G.E. *Aedes aegypti* control strategies: a review. *Epidemiol. Serv. Saude*. **2016**, 25, 391-404
- [83] Organização Panamericana de Saúde (OPAS). Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington. *Publica o Científica*. **1995**, 548, 109 -1995.
- [84] Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Controle de vetores e Procedimentos de segurança. Brasília 2001.
- [85] Lima, E.P; Oliveira Filho, A.M. ; Lima, J.W.O. ; Alberto Novaes Ramos Júnior, A.R. ; Cavalcanti, L.P.G. ; Pontes, R.J.S. Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **2006**, 39, 259-263.
- [86] Oyewole, I. O.; Moronkola, D. O.; Ogunwande, I. A.; Okoh, H.; Ibidapo, C. A.; Denloye, A. B.; Ogunnowo, A. A.; Adedayo, M. Larvicidal activity of the essential oil from *Phyllanthus amarus* Sch. et Thonn (Euphorbiaceae) against three species of mosquitoes. *Der Pharmacia Lettre Journal*. **2010**, 2, 136-141.

- [87] Nkya, T.E.; Akhouayri, I.; Kisinza, W.; David, J.P. Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: Facts, evidences and prospects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. **2013**, 43, 407- 416.
- [88] Rocha, H.D.R.; Paiva, M.H.S.; Silva, N.M; Araújo, A.P.; Camacho, D.R.R.A.; Moura, A.J.F.; Gómez, L.F.; Ayres, C.F.J.; Santos, M.A.V.M. Susceptibility profile of *Aedes aegypti* from Santiago Island, Cabo Verde, to insecticides. *Acta Tropica*. **2015**, 1-25.
- [89] Marriel, N.B.; Tomé, H.V.V. ; Guedes, R.C.N.; Martins, G.F. Deltamethrin-mediated survival, behavior, and oenocyte morphology of insecticide-susceptible and resistant yellow fever mosquitos (*Aedes aegypti*). *Acta Tropica*. **2016**, 1-24.
- [90] Delécluse, A.; Pérez, V.J.; Berry, C. Vector-active toxins: structure and diversity. In: Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Dordrecht: *Kluwer Academic Publishers*. **2000**. 101-126.
- [91] Oliveira, A.M.A.F. Resistência dos Insetos aos Inseticidas, a Situação Atual do *Aedes aegypti* e a Explosão de Dengue no Rio de Janeiro em 2002. *Vetores e Pragas*. **2002**, 913 .
- [92] Simas, N. K. ; Lima, E. C. ; Conceição, S. R.; Kuster, R. M. ; Oliveira Filho, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da Dengue- Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo Vermelho) e de Terpenóides e Fenilpropanóides. *Quim. Nov.* **2004**, 27,46-49
- [93] Penna, M. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. *Cad. Saúde Pública*. **2003**, 19, 305-309.
- [94] Simas, N. K. ; Lima, E. C. ; Conceição, S. R.; Kuster, R. M. ; Oliveira Filho, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da Dengue- Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo Vermelho) e de Terpenóides e Fenilpropanóides. *Quim. Nov.* **2004**, 27,46-49

- [95] Nerio, L. S.; Olivero-verbel, J.; Stashenko, E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*. **2010**, 101,372–378.
- [96] Simas, N. K. ; Lima, E. C. ; Conceição, S. R.; Kuster, R. M. ; Oliveira Filho, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da Dengue- Atividade larvicide de *Myroxylon balsamum* (Óleo Vermelho) e de Terpenóides e Fenilpropanóides. *Quim. Nov.* **2004**, 27,46-49.
- [97] Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. **2004**, 94, 223 – 253.
- [98] Karimi, K. ; Ahari, A. B. ; Weisany , W. ; Pertot , I. ; Vrhovsek, U. ; Arzanlou, M. Funnelformis mosseae root colonization affects Anethum graveolens essential oil composition and its efficacy against Colletotrichum nymphaeae. *Industrial Crops and Products*. **2016**, 90, 126–134.
- [99] Tohidi, B. ; Rahimmalek, M. ; Arzani, A. Essential oil composition, total phenic, flavonoid contents, and antioxidant activity of Thymus species collected from diferente regions of Iran. *Food Chemistry*. **2017**, 220, 153–161.
- [100] Siani AC, Sampaio ALF, Souza MC, Henrique MGMO, Ramos MFS. Óleos Essenciais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. **2000**; 16: 38-43
- [101] Alma, M. H.; Ertas, M.; Nitz, S.; Kollmannsberger, H. Chemical composition and content os essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). *BioResources*. **2007**, 2, 265-269.
- [102] Costa, J.G.M.;. Rodrigues, F.F.G.; Angélico, E.C. ; Silva, M.R. ; Mota, M.L. ; Santos, N.K.A.; Cardoso, A.L.H. ; Lemos, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **2005**, 15, 304-309.

- [103] Silva, T.C.; Oliveira, J.R.; Souza, S.J.O. Extração de Eugenol a Partir do Cravo da Índia e Produção de Sabonetes Aromatizados. *A revista do e-Tec Brasil*. **2011**, 1, 1-12.
- [104] Silvestri, J.D.F.; Paroul, N.; Czyewski, E.; Lerin, L.; Ieda Rotava, I.; Cansian, R.L.; Mossi, A.; Toniazzo, G.; Oliveira, D. ; Treichel, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) *Rev. Ceres, Viçosa*. **2010**, 57, 589-594.
- [105] Han, X.; Parker, T.L. Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. *PHARMACEUTICAL BIOLOGY*. **2017**, 55, 1619–1622.
- [106] Ranasinghe, L.; Jayawardena,B.; Abeywickrama,K.; Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology*. **2002**,35, 208-211.
- [107] Bachiega, T.F.; Sousa, J.P.B.; Bastos, J.K.; Sforcin, J.M. Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2012**, 64, 610–616.
- [108] Zengin, H.; Baysal, A.H. Antioxidant and antimicrobial activities of thyme and clove essential oils and application in minced beef. *Journal of Food Processing and Preservation*. **2014**, 1-11.
- [109] Cortés-Rojas 2014] Cortés-Rojas, D.F.; Souza, C.R.F.; Oliveira, W.P. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*. **2014**, 4, 90-96.
- [110] Barbosa, J. D. F. ; Silva, V. B. ; Alves, P. B. ; Gumina, G. ; Santos, R. L. C. ; Damião P Sousa, D. P. ; Cavalcanti, S. C. H. Structure–activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Society of Chemical Industry*. **2012**, 1-6.

- [111] Fayemiwo, K. A.; Adeleke, M. A.; Okoro, O. P.; Awojide, S. H.; Awoniyi, I. O. Larvicidal efficacies and chemical composition of essential oils of *Pinus sylvestris* and *Syzygium aromaticum* against mosquitões. *Asian Pac J Trop Biomed*. **2014**, 4, 30-34
- [112] Araujo, A. F. O.; Ribeiro-Paes, J. T.; Deus, J. T.; Cavalcanti, S. C. H.; Nunes, R. S.; Alves, P. B.; Macoris, M. L. G. Larvicidal activity of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their antagonistic effects with temephos in resistant populations of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **2016**, 111, 443-449.
- [113] Rissi, N.C.; Guglielmi, D.A.S.G.; Corrêa, M.A.; Chiavacci, L.A. Relationship between composition and organizational levels of nanostructured systems formed by Oleth 10 and PPG-5-cetech-20 for potential drug delivery. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2014**, 50, 553-661.
- [114] Oliveira, A. G.; Scarpa, M. V.; Correa, M. A.; Cera, L. F. R.; Formariz, T. P. Microemulsions: Structure and application as drug delivery systems. *Química Nova*. **2004**, 27, 131-138.
- [115] Silva, P.K.L. Remoção de Óleo da Água de Produção por Flotação em Coluna Utilizando Tensoativo de Origem Vegetal. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, **2008**.
- [116] Patel, S.G.; Bummer, P.M. Thermodynamics of Aggregate Formation between a Non-Ionic Polymer and Ionic Surfactants: an Isothermal Titration Calorimetric Study. *International Journal of Pharmaceutics*. **2016**, 1-52
- [117] Lawrence, M.J.; Rees, G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **2012**, 64, 175–193.
- [118] Kłosowska-Chomiczewska, I. E.; Mędrzycka, K.; Hallmann, E.; Karpenko, E.; Pokynbroda, T.; Macierzanka, A.; Jungnickel, C. *Rhamnolipid CMC prediction*. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2016**, 1-21.

- [119] Silva , R.L.; Volpato, N. M. Meios para dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **2002**, 38, 163, 172.
- [120] Maghraby, G.M.E. Transdermal delivery of hydrocortisone from eucalyptus oil microemulsion: Effects of cosurfactants. *International Journal of Pharmaceutics*. **2008**, 355, 285–292.
- [121] Kreilgaard, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **2002**, 54, 577-598.
- [122] Hathout, R.M.; Woodman, T.J. Applications of NMR in the characterization of pharmaceutical microemulsions. *Journal of Controlled Release*. **2012**, 161,62–72.
- [123] Alany RG, Tucker IG, Davies NM, Rades T. Characterizing colloidal structures of pseudoternary phase diagrams formed by oil/water/amphiphile systems. *Drug Dev Ind Pharm*. **2001**, 27, 31–8.
- [124] Du, Z.; Mao, X.; Tai, X.; G.; Liu, X. Preparation and properties of microemulsion detergent with linear médium chain fatty alcohols as oil phase. *Journal of Molecular Liquids*. **2016**, 1-20.
- [125] Rossi, C. G. F. T.; Dantas, T. N. C.; Neto, A. A. D.; Maciel, M. A. M. Microemulsão : uma abordagem básica e perspectiva para aplicabilidade industrial. *Rev. Univ. Rural. Sér. Ci. Exatas e da Terra*. **2007**, 26, 45-66..
- [126] Maghraby G. M. E. Self-microemulsifying and microemulsion systems for transdermal delivery of indomethacin: Effect of phase transition. *Colloid Surface B*. **2010**, 75, 595–600.
- [127] Figueiredo, K. A.; Mendes, R. M. B.; Carvalho, A. L. M.; Freitas, R. M. Microemulsão como sistema de liberação de fármaco para a via transdérmica: uma prospecção tecnológica. *Revista GEINTEC*. **2013**, 3, 36-46.

- [128] Zhu, W.; Guo, C.; Yu, A.; Gao, Y.; Cao, F.; Zhai, G. Microemulsion-based hydrogel formulation of penciclovir for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. **2009**, 378, 152–158.
- [129] Chen, H.; Chang, X.; Du, D.; Li, J.; Xu, H.; Yang, X. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. **2006**, 315, 52-58.
- [130] Raju Y, P.; Hyndavi N; Chowdary V, H.; Nair, R. S.; Basha D, J.; Tejeswari N. In vitro assessment of non-irritant microemulsified voriconazole hydrogel system. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology: An International Journal*. **2016**, 1-10.
- [131] Takahashi, S. H. Desenvolvimento de Hidrogéis Inteligentes como meio de Liberação Controlada de Fármaco. Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, **2014**.
- [132] Costa, R. A. S.; Síntese e Teste de Hidrogéis Inteligentes para a Liberação Controlada de Fármacos. Dissertação de Mestre. Instituto Politécnico de Bragança, **2013**.
- [133] Moura, M. R.; Rubira, A. F.; Muniz, E. C. Hidrogéis Semi-IPN Baseados em Rede de Alginato-Ca²⁺ com PNIPAAm Entrelaçado: Propriedades Hidrofílicas, Morfológicas e Mecânicas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. **2008**, 18, 132-137.
- [134] Kapoor, Y. ; Chauhan, A. Ophthalmic delivery of Cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*. **2008**, 361, 222–229.
- [135] Djekic, L.; Martinovic, M.; Stepanović-Petrović, R.; Micov, A.; Tomić, M.; Primorac, M. Formulation of hydrogel-thickened nonionic microemulsions with enhanced percutaneous delivery of ibuprofen assessed in vivo in rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2016**, 92, 255-265.

- [136] Okur, N. Ü.; Çağlar, E. S.; Arpa, M. D.; Karasulu, H. Y. Preparation and evaluation of novel microemulsion-based hydrogels for dermal delivery of benzocaine. *Journal Pharmaceutical Development and Technology* . **2016**, 22, 1-12.
- [137] Gulsen, D.; Chauhan, A. Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel: a potential ophthalmic drug delivery vehicle. *International Journal of Pharmaceutics*. **2005**, 292, 95–117.
- [138] Coelho, A.; Canta, J. P.; Martins, J. N. R.; Oliveira, S. A.; Marques, P. Perspetiva histórica e conceitos atuais dos sistemas adesivos amelodentinários – revisão da literatura. *Revista Portuguesa de Estomatologia Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*. **2012**, 53, 39-46.
- [139] Gulsen, D.; Chauhan, A. Drug and surfactant transport in Cyclosporine A and Brij 98 laden p-HEMA hydrogels. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2008**, 322, 624–633.
- [140] Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M.; Soares, N. A.; Goulart, M. O. F.; Abreu, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de Quitosana. *Quim. Nova*. **2001**, 34, 7, 1215-1223.
- [141] Gulsen, D.; Chauhan, A. Drug and surfactant transport in Cyclosporine A and Brij 98 laden p-HEMA hydrogels. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2008**, 322, 624–633.
- [142] Gulsen, D.; Chauhan, A. Effect of water content on transparency, swelling, lidocaine diffusion in p-HEMA gels. *Journal of Membrane Science*. **2006**, 269, 35–48.
- [143] Gulsen, D.; Chauhan, A. Ophthalmic delivery of Cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*. **2008**, 361, 222–229.
- [144] Santos, K. P. Sistemas nanoestruturados a base de PPG-5 CETETH-20, água e óleo essencial de *Syzygium aromaticum*: obtenção, caracterização e aplicação no controle larvicida do *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado em

Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Sergipe(UFS), São Cristovão/SE, **2016**.

[145] Mazzafera, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasil. Bot.* **2003**, 26, 231-238.

[146] Oliveira, R. A.; Reis, T. V.; Sacramento, C. K.; Duarte, L.P. ; Oliveira, F.F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* **2009**, 19, 771-775.

[147] Corrêa, N.M.; Camargo Júnior, F. B.; Ignácio, R.F.; Leonardi, G.R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* **2005**, 41, 73-78.

[148] Costa, R. O. R.; Lameira, F. L.; Nunes, E. H. M.; Vasconcelos, D. C. L.; Vasconcelos, W. L. Preparation of silica-poly(2 hydroxyethylmethacrylate) hybrids modified with 3 methacryloxypropyltrimethoxysilane. *Ceramics International.* **2016**, 42, 3465-3472

[149] Constantini, A.; Luciani, G.; Silvestre, B.; Tescione, F.; Branda, F. Bioactive Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)/Silica Gel Hybrid Nanocomposites Prepared by Sol-Gel Process. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials.* **2007**, 98-104.

[150] Salgado-Delgado, R.; Bustos-Figueroa, L. A.; García-Hernández, E. ; Vargas-Galarza, Z.; Salgado-Delgado, A. M.; Olarte-Pareda, A.; López-Lara, T.; Hémandez-Zaragoza, J. B.; Castaño, V. M. Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate-Bis[Trimethoxysilylpropyl]Amine) Hybrid Networks. *J Inorg Organomet Polym.* **2016**, 26, 756–763.

[151] Román, J.; Padilla, S.; Vallet-Regí, M. Sol-Gel Glasses as Precursors of Bioactive Glass Ceramics. *Chem. Mater.* **2003**, 15, 798-806.

[152] Cremonez, C.P.; Bentley, M.V.L.B.; Lara, M.G. Caracterização do intumescimento de sistemas líquido-cristalinos de fase lamelar de monoleína e

água contendo polihexametilenobiguanida. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. **2013**, 34, 545-553.

[153] Ginani, M. V. N.; Nascimento, E. G.; Oliveira, U. O. B. Estudo da influência da natureza de reticulantes e aditivos orgânicos sobre o comportamento de géis de quitosana. *Química Nova*. **1999**, 22, 801-804.

[154] Anseth, K. S.; Bow, C. N.; Brannon-Peppas, L. Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterjols*. **1996**, 17, 1647-1657.

[155] Aouanda, F. A.; Moura, M. R.; Menezes, E. A.; Nogueira, A. R. A.; Mattoso, L. H. C. Síntese de hidrogéis e cinética de liberação de amônio e potássio. *R. Bras. Ci. Solo*. **2008**, 1643-1649.

[156] Leimann, F.V.; Goncalves, O.H.; Machado, R.A.F; Bolzan, A. Antimicrobial activity of microencapsulated lemon grass essential oil and the effect os experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Materials Science and Engineerring*. **2009**, 29, 430-436.

[157] Santos, A.J. “Nanocompósitos contendo óleo essencial de *Syzygium aromaticum*: Obtenção, caracterização e atividade larvica contra o *Aedes aegypti*”. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, **2014**.

[158] Kadam, A.; Pawar, M.; Yemul, O.; Thamke, V.; Kodam, K. Biodegradable biobased epoxy resin from laranja oil. *Polymer*. **2015**, 72, 82-92.